

王伟宏, 胡菊丽, 吴定涛, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 的藜麦皂苷提取物及入血成分分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 296–308. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050100

WANG Weihong, HU Juli, WU Dingtao, et al. Analysis of Quinoa Saponin Extract and Blood Constituents Based on UPLC-Q-Exactive-MS/MS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(9): 296–308. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050100

· 分析检测 ·

基于 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 的藜麦皂苷 提取物及入血成分分析

王伟宏, 胡菊丽, 吴定涛, 王诗洁, 蒋 红, 邹 亮, 胡一晨*

(农业农村部杂粮加工重点实验室, 四川省杂粮产业化工程技术研究中心, 成都大学食品与
生物工程学院, 四川成都 610106)

摘 要: 运用超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道离子阱联用质谱 (UPLC-Q-Exactive-MS/MS) 对藜麦皂苷提取物的主要化学成分及大鼠口服入血成分进行分析鉴定。采用 Hypersil Gold VANQUISH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相为甲酸水-甲酸乙腈梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 分析时间 35 min, 流速 0.3 mL·min⁻¹。采用电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子源, Full ms/dd-ms² 模式检测。结果显示方法的回收率、基质效应、精密度和稳定性等均符合生物样品的测定要求。在藜麦皂苷提取物中共鉴定到 15 种皂苷, 按苷元构型分为齐墩果酸型皂苷 3 种, 常春藤皂苷 5 种, 商陆酸型皂苷 6 种, Serjanic acid 型皂苷 1 种。选用雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 以 175.5 mg·kg⁻¹ 灌胃给予藜麦皂苷提取物, 于给药后 0、0.5、1、2、4 h 下, 眼眶取血, 大鼠血浆以盐酸丁螺环酮为内标, 用甲醇沉淀蛋白, 离心, 微孔滤膜过滤后进样分析。结果显示在入血成分中共检测到 6 种原型皂苷以及微量水解后的常春藤皂苷元和 Serjanic acid 苷元。通过对提取物组成成分及入血成分分析, 共鉴定出藜麦皂苷中 15 个皂苷类化合物及裂解规律, 发现了大鼠血浆入血成分相对含量变化情况。初步阐明了藜麦三萜皂苷的化学组成以及体内代谢特征, 为藜麦进一步研究和开发应用提供理论依据。

关键词: 超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道离子阱联用质谱, 藜麦, 皂苷提取物, 代谢物

中图分类号: TS219

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)09-0296-13

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050100



本文网刊:

Analysis of Quinoa Saponin Extract and Blood Constituents Based on UPLC-Q-Exactive-MS/MS

WANG Weihong, HU Juli, WU Dingtao, WANG Shijie, JIANG Hong, ZOU Liang, HU Yichen*

(Key Laboratory of Coarse Cereal Processing of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Sichuan Engineering and
Technology Research Center of Coarse Cereal Industrialization, College of Food and Biological Engineering,
Chengdu University, Chengdu 610106, China)

Abstract: The main chemical components of saponins extracted from quinoa and the components in the blood of rat after oral administration were analyzed and identified by ultra-performance liquid chromatography coupled with Q-Exactive mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive-MS/MS). Hypersil Gold VANQUISH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) was used. The mobile phase was formic acid water-formic acid acetonitrile gradient elution, the column temperature was 30 ℃, the analysis time was 35 min, the flow rate was 0.3 mL·min⁻¹. Electrospray ion source (ESI), positive and negative ion sources and Full ms/dd-ms² mode were used for detection. The results showed that the recovery rate, matrix effect, precision and stability of the method met the requirements of biological samples. A total of 15 saponins were identified in the saponin extract of quinoa, which were divided into three oleanolic acid saponin types, five hederagenin saponin types,

收稿日期: 2022-05-11

基金项目: 内蒙古自治区科学技术厅中央引导地方科技发展资金项目 (2022ZY0138); 农业国家标准和行业标准制修订项目 (HYB-20357)。

作者简介: 王伟宏 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 617737751@qq.com。

* 通信作者: 胡一晨 (1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品功能营养因子评价与分析, E-mail: huyichen0323@126.com。

six phytolaccagenic acid saponin types and one serjanic acid saponin type according to the configuration of aglycones. Male Sprague Dawley (SD) rats were selected as the experimental object, after intragastric administration of quinoa saponin extract at $175.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, at 0, 0.5, 1, 2 and 4 hours after administration, blood was taken from the orbit, the plasma of rats took buspirone hydrochloride as the internal standard, precipitated protein with methanol, centrifuged, filtered by microporous membrane, and then injected for analysis. The results showed that six prototype saponins and trace hydrolyzed hederagenin and serjanic acid glycosides were detected in the blood components of rat plasma. Through the analysis of the components of the extract and the components entering the blood, 15 saponins in quinoa saponins were identified and their cleavage laws were found, and the changes in the relative contents of the components into the blood of rat plasma were found. The chemical composition and metabolic characteristics of triterpenoid saponins in quinoa were preliminaries elucidated, which provided a theoretical basis for further research and application of quinoa.

Key words: ultra performance liquid chromatography coupled with q-exactive mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive-MS/MS); quinoa; saponin extracts; metabolite

藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.) 又称南美藜、藜谷、奎奴亚藜等, 是苋科藜属植物^[1], 藜麦蛋白质含量高, 氨基酸组成相对完美^[2]。其营养价值高于人们日常食用的谷物小麦、大麦、玉米、稻米、高粱等^[3], 因而享有“超级谷物”、“营养黄金”、“未来食品”之美称^[4]。尽管藜麦营养物质如此丰富, 但实际上人们对于食用天然藜麦仍存在一定的抵触性, 其主要原因与藜麦中存在的抗营养因子皂苷有关^[5-6]。藜麦皂苷是藜麦糖基化的次生代谢物, 属于三萜糖苷类化合物, 分布于整个植株内(如叶子、花、果实、种子和种皮), 但主要存在于种皮的乳突细胞中, 可以抵御鸟类和虫子的捕食^[7]。藜麦三萜皂苷中含有的主要苷元类型如图 1 所示, 包括齐墩果酸型皂苷元、常春藤型皂苷元、商陆酸型皂苷元和 Serjanic acid 型皂苷元^[8]。近年来随着皂苷多种生物活性的发现, 其研究日益广泛^[9]。许多研究已经证实藜麦皂苷具有多种生物活性, 包括抗虫、抑菌、抗氧化和抗肿瘤活性^[10]。但藜麦皂苷作为藜麦中主要的抗营养因子, 其本身所具有的细胞毒性和溶血性也不容忽视, 研究指出皂苷过高剂量服用会产生毒性^[11], 会造成小肠细胞膜的破裂, 并影响蛋白质的吸收^[12], 皂苷还具有溶血性, 能使红

细胞肿胀、破裂^[13-14], 限制了在临床中作为静脉注射剂的使用^[15]。现代中药血清药理学认为, 只有被吸收入血的化学成分才是真正的效应物质^[16], 目前关于藜麦皂苷毒性研究多集中在体外^[17], 而对体内毒性研究较少^[18], 对于藜麦皂苷安全性评价仍需进一步探索。

超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道离子阱联用质谱(UPLC-Q-Exactive-MS/MS), 具有分辨率高、检测质量范围广等优点, 能够对复杂基质中的组分进行精确定性, 无需对目标物逐个优化离子及相关参数, 对于多目标物分析可以极大地降低检测方法的时间, 同时又能很好地避免低分辨质谱易受基质干扰而产生假阳性的现象^[19]。因此本研究在藜麦皂苷大鼠灌胃后运用 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 分析其入血成分, 旨在阐明藜麦三萜皂苷的体内代谢特征, 以期对藜麦的进一步研究和开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

LL-1 号藜麦样品 于 2021 年 6 月采自成都大学金堂试验基地($30^{\circ}61'N$, $104^{\circ}51'E$), 经成都大学杂粮加工重点实验室的赵钢教授鉴定为苋科藜属植物藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.) 的干燥种子; SPF 级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 雄性, 体重(220 ± 20) g, 由成都达硕实验动物有限公司提供, 动物许可证号: SCXK(川)2020-030。大鼠饲养在控制条件(温度: $25 \pm 2^{\circ}C$; 相对湿度: $50\% \pm 10\%$) 下, 12 h/12 h 明暗循环, 适应性饲养一周后开始实验, 给药前禁食 12 h, 自由饮水。本研究方案经成都大学伦理委员会审查, 符合动物实验伦理学相关要求。无水乙醇、氯化钠、乙酸乙酯、正丁醇(均为分析纯)、甲醇、乙腈、甲酸(均为色谱纯) 成都市科隆化学品有限公司; 盐酸丁螺环酮(CAS:33386-08-2, 纯度 $\geq 98\%$)、齐墩果酸(CAS:508-02-1, 纯度 $\geq 98\%$) 四川省维克奇生物科技有限公司; 常春藤皂苷元(CAS:465-99-6, 纯度 $\geq 98\%$) 成都曼斯特生物科技有限公司; 其余试剂均为分析纯, 实验所用水为超纯水。

Q-Exactive Focus 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(配有电喷雾离子源及 Xcalibur 数据处理系统)、Thermo Scientific Vanquish UPLC 系统 美国

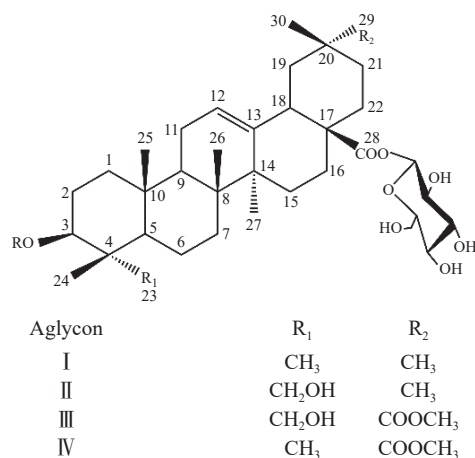


图 1 藜麦三萜皂苷中四种主要苷元

Fig.1 Four main aglycones in triterpene saponins of quinoa

注: I: 齐墩果酸型皂苷元; II: 常春藤型皂苷元; III: 商陆酸型皂苷元; IV: Serjanic acid 型皂苷元。

赛默飞世尔科技公司; SB-800DTD 超声波清洗机 (840 W) 宁波新芝生物科技股份有限公司; FD-2 冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; CPA-225D 型电子分析天平 德国赛多利斯; RE-52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; H2050R 高速冷冻离心机 湘潭湘仪仪器有限公司; UPHW-IV-90T 超纯水机 四川优普超纯科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 藜麦皂苷提取物的制备 称取 100 g 藜麦种子, 粉碎过 60 目筛, 按 1:10(g·mL⁻¹) 的料液比加入 70% 的乙醇, 在 50 ℃、400 W 下超声波辅助提取 30 min。将超声后的提取液进行离心并旋转蒸发浓缩, 将浓缩后的提取液按 1:3(V:V) 体积加入石油醚混合后, 静置 10 min, 待分层后, 弃掉石油醚层保留水层, 重复三次。再按照 1:3(V:V) 体积加入乙酸乙酯, 待分层后保留水层, 重复三次。最后加入 1:3(V:V) 体积的水饱和正丁醇溶液, 萃取三次后, 保留正丁醇层, 收集正丁醇层, 旋转蒸发浓缩后, 真空冷冻成粉末, 密封 4 ℃ 保存备用。

1.2.2 混合标准品溶液配制 分别精密称取齐墩果酸标准品和常春藤皂苷元标准品适量, 加入甲醇溶解, 分别制得浓度为 1.2 mg·mL⁻¹ 的单标储备溶液, 再用甲醇稀释成不同浓度的混合标准品溶液。

1.2.3 藜麦皂苷提取物待测溶液配制 精密称取适量藜麦皂苷冻干粉, 加入甲醇, 超声溶解 10 min, 制得浓度为 4 mg·mL⁻¹ 的溶液, 12000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液转入进样瓶, UPLC-Q-Exactive-MS/MS 分析。

1.2.4 动物实验 取于实验环境下适应饲养一周并禁食 12 h SD 大鼠 6 只, 175.5 mg·kg⁻¹ 的剂量口服灌胃给药, 分别在给药后 0、0.5、1、2、4 h 眼眶取血, 收集大鼠血液样本于肝素钠处理后的 EP 管中。在 4 ℃ 4000 r·min⁻¹ 下离心 10 min, 取上层血浆, -80 ℃ 保存待测。

1.2.5 大鼠血浆待测样本的制备 取 100 μL 血浆加入 5 μL 10 μg·mL⁻¹ 内标物盐酸丁螺环酮, 再加入 300 μL 的甲醇。将混合液涡旋 30 s 后, 12000 r·min⁻¹ 下离心 10 min, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液转入进样瓶, UPLC-Q-Exactive-MS/MS 分析。

1.2.6 色谱条件 色谱柱: Hypersil Gold VANQUISH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 进样量 2 μL; 流动相 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B); 流速 0.3 mL·min⁻¹; 柱温 30 ℃; 分析时间 35 min; 梯度洗脱: 0~5 min, 10%~20% B; 5~25 min, 20%~90% B; 25~30 min, 90% B; 30~35 min, 90%~10% B。

1.2.7 质谱条件 质谱条件: 离子源为 HESI 源, 正、负离子检测模式, 鞘层气体流速 40 Arb; 辅助气体流速 10 Arb; 喷雾电压 3.5 kV; 毛细管温度 320 ℃; 辅助气温度 350 ℃; 扫描模式: Full ms/dd-ms², Full ms

分辨率为 70000, dd-ms² 分辨率 17500, 扫描范围 m/z 100~1500, 碰撞能量为 10、20、40 eV。

1.2.8 方法学考察 参照 2020 年版《中国药典》^[20] 四部 9102 生物样品定量分析方法验证指导原则对本实验进行方法学考察。

1.2.9 化合物鉴定方法 运用 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术, 采用 Full ms/dd-ms² 扫描模式, 仪器首先采集样品的全扫描图谱, 并对化合物的母离子和二级特征离子碎片等信息进行采集, 使用 Trace Finder 5.0 软件对藜麦皂苷中五环三萜类化合物母离子和二级碎片精确分子量进行建库, 通过 Xcalibur Qual Browser 软件查看化合物谱图信息并预测母离子化学结构式, 同时运用 Compound Discoverer 3.1 软件对原始数据进行峰对齐和峰提取, 将得到的结果与前人研究结果进行比对, 将结果与对照品信息、文献和 MzCloud、ChemSpider 数据库进行匹配。分析未知化合物成分, 分析相关裂解途径和规律。

1.3 数据处理

所有试验均重复三次取 mean±SD。使用 Trace-Finder 5.0 软件完成化合物库的建立及原始数据分析。使用 Xcalibur Qual Browser 完成化合物的定性分析。利用 Compound Discoverer 3.1 软件对原始数据进行峰对齐和峰提取。采用 Origin 9.0 软件处理数据及作图。采用 ChemDraw 19.0 绘制结构式。

2 结果与分析

2.1 前处理条件的优化

分析生物样品中的药物成分时, 因待测药物浓度低, 且化合物成分复杂, 需对样品进行一系列的处理以便进行检测。而血清中所含蛋白和酶较多, 如直接检测会对仪器造成损坏, 干扰待测物的检出; 同时血清中药物含量低, 需要对其进行进一步的富集浓缩; 因此在血浆样本前处理时, 首先考察了甲醇和乙腈作为蛋白沉淀剂的作用, 结果显示, 使用乙腈作为蛋白沉淀剂时回收率较低、样本中存在蛋白类物质干扰等问题, 因此选用甲醇作为蛋白沉淀剂。在对甲醇添加量考察时, 考察了 100、200、300 和 400 μL 甲醇添加量对样品的影响。结果显示, 甲醇添加量为 300 μL 时, 样品中齐墩果酸回收率为 88.68%, 最高回收率为 94.59%。常春藤皂苷元回收率为 108.35%, 最高回收率为 103.65%, 其余条件下回收率均较低且图谱中杂质峰较多。故本实验中选用甲醇作为蛋白沉淀剂, 添加量为 300 μL, 用于后续验证。

2.2 方法学考察结果

2.2.1 线性方程、检出限和定量限 取空白血浆 100 μL, 分别加入“1.2.2”项下不同浓度的混合标准品溶液适量, 平行 6 份, 按照“1.2.5”项方法处理后进样分析, 用峰面积(y)对分析物质量浓度(x)进行线性回归, 绘制标准曲线, 得到回归方程。并根据样品峰面积和内标峰面积的比值计算各成分 RSD 值。以

峰面积为噪音 3 倍($S/N=3$)时的进样浓度为检测限(LOD),以峰面积为噪音 10 倍($S/N=10$)时的进样浓度为定量限(LOQ)。结果显示齐墩果酸回归方程为: $y=2.517\times 10^3x+38.95$, $R^2=0.9996$,常春藤皂苷元回归方程为: $y=4.519\times 10^3x-43.86$, $R^2=0.9997$ 。齐墩果酸与常春藤皂苷元检出限分别为 0.05、0.04 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,定量限分别为 0.17、0.12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.2 回收率试验 在空白血浆 100 μL 中分别加入适量混合标准品溶液,平行 6 份,按照“1.2.5”项方法处理后进样分析,计算加标回收率和 RSD 值。齐墩果酸与常春藤皂苷元回收率分别为 91.37%、106.38%,RSD 值分别为 8.63% 和 7.32%。

2.2.3 精密度试验 取空白血浆 100 μL ,分别加入“1.2.2”项下混合标准品溶液适量,按照“1.2.5”项方法处理后于连续 6 次进样分析,根据样品峰面积和内标峰面积的比值计算各成分 RSD 值。齐墩果酸与常春藤皂苷元 RSD 分别为 9.26%、8.17%,表明仪器精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 取空白血浆 100 μL ,分别加入“1.2.2”项下混合标准品溶液适量,按照“1.2.5”项方法处理后分别于 0、3、6、9、12、24 h 时间点进样分析,根据样品峰面积和内标峰面积的比值计算各成分相对标准偏差(RSD)。齐墩果酸与常春藤皂苷元稳定性分别为 7.22%、5.13%,表明样本在 24 h 内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 取空白血浆 100 μL ,分别加入“1.2.2”项下混合标准品溶液适量,平行 6 份,按照“1.2.5”项方法处理后进样分析,根据样品峰面积和内标峰面积的比值计算各成分 RSD 值(表 1)。齐墩果酸和常春藤皂苷元重复性 RSD 值分别为 8.56%、4.87%,表明各被测成分重复性良好。

2.3 藜麦皂苷提取物组成成分分析

藜麦三萜皂苷中 4 种苷元类型的主要不同点在于 R1、R2 位点的取代基不同。而各苷元类型所构成的皂苷区别在于附着在 C-3 和 C-28 位上有两种

不同寡糖相连,从而形成双糖苷分子^[21],尽管 C-3 位上附加的寡糖链具有一定的多样性,如吡喃葡萄糖基(glucopyransyl, Glc)、吡喃阿拉伯糖基(arabinopyranosyl, Ara)、木糖吡喃基(xylopyranosyl, Xyl)、吡喃半乳糖基(galactopyranosyl, Gal)以及吡喃葡萄糖醛酸基(glucuronopyranosyl, GluA),但 C-28 位上总是存在单个吡喃葡萄糖基(Glc)。而在高能量碰撞诱导解离下,化合物更倾向于先丢失 C-28 位处的糖基,这可能是由于 C-28 处的酯键较 C-3 处的醚键更易断裂^[22]。

运用 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术,采用 Full ms/dd- ms^2 扫描模式,以空白甲醇溶液为对照进行对比分析,对化合物的母离子和二级特征离子碎片等信息进行采集并将得到的结果与前人研究结果进行比对,结合文献相关信息^[23-27],共鉴定出 15 种皂苷成分,基峰色谱图(Base Peak Chromatogram, BPC)见图 2,代谢物结果见表 2。根据得到藜麦皂苷及其碎片离子信息,推测藜麦皂苷的组成及其结构。

藜麦皂苷主要分为四种类型,在对结果鉴定时按化合物构型对四种类型皂苷进行分类并分析其结构。化合物解析如下:

1 号峰, m/z 929.51093 $[M+H]^+$,推断其分子式为 $\text{C}_{47}\text{H}_{76}\text{O}_{18}$,碎片离子 m/z 767.45898,为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-\text{Glc}]^+$, m/z 635.41531 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-\text{Glc}-\text{Ara}]^+$, m/z 473.36304 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-\text{Glc}-\text{Ara}-\text{Glc}]^+$,根据其裂解规律及特征性离子,结合文献报道^[23-27]鉴定为:常春藤皂苷元 3-O- $[\alpha\text{-L-吡喃阿拉伯糖-(1,3)-}\beta\text{-D-吡喃葡萄糖}]\text{-28-O-}\beta\text{-D-吡喃葡萄糖苷(Hederagenin 3-O-}[\alpha\text{-L-arabinopyranosyl-(1,3)-}\beta\text{-D-glucuronopyranosyl]}\text{-28-O-}\beta\text{-D-glu-copyranoside})$ 。

2 号峰, m/z 811.44692 $[M+H]^+$,推断其分子式为 $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{15}$,碎片离子 m/z 649.39771,为母离子失去

表 1 稳定性、精密度、重复性和回收率结果

Table 1 Results of stability, precision, repeatability and recovery

对照品	稳定性(n=6)			精密度(n=6)			重复性(n=6)			回收率(n=6)		
	A_s	A_s/A_i	RSD(%)	A_s	A_s/A_i	RSD(%)	A_s	A_s/A_i	RSD(%)	回收率	平均值(%)	RSD(%)
常春藤皂苷元	65276793	0.6509051	5.13%	58776618	0.5860888	8.17	55589876	0.5543124	4.87	108.35	106.38	7.32
	68449264	0.7079094		54238415	0.5609393		57209525	0.5916668		105.68		
	71622412	0.6908903		69137173	0.6669170		62144197	0.5994607		108.35		
	36914345	0.7173293		28240396	0.5487748		29428614	0.5718646		106.92		
	66643096	0.6265274		56605792	0.5321644		56595046	0.5320633		103.65		
	68784785	0.6893669		58026145	0.5815429		53844778	0.5396369		105.33		
	81124476	0.8089297		117086024	1.1675190		98908215	0.9862596		88.68		
	71172099	0.7360692		102842673	1.0636096		91812677	0.9495362		92.25		
齐墩果酸	88617222	0.8548272	7.22%	125210202	1.2078136	9.26	94167436	0.9083661	8.56	89.51	91.36	8.63
	39899715	0.7753418		53468272	1.0390096		45216655	0.8786620		89.37		
	96098748	0.9034470		103893203	0.9767245		84544198	0.7948199		94.59		
	80677821	0.8085600		96340014	0.9655278		80717047	0.8089531		93.81		

注: A_s : 待测物峰面积; A_i : 内标物峰面积。

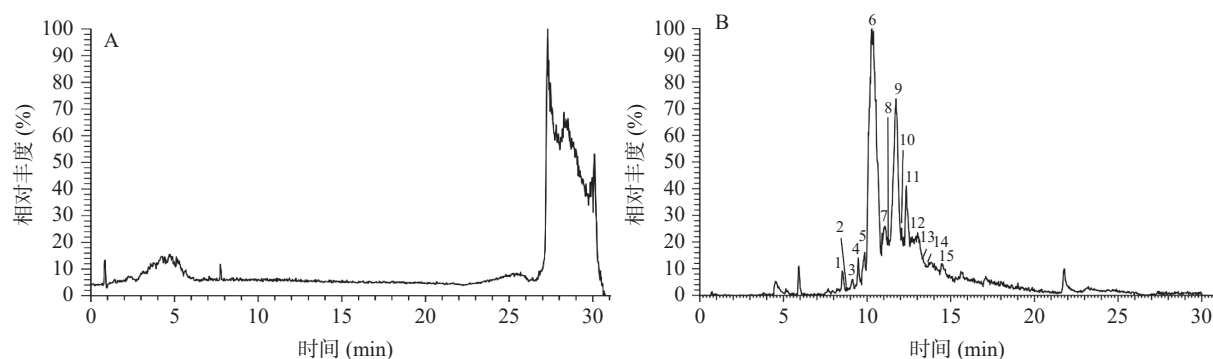


图2 空白溶液(A)和藜麦皂苷(B)的基峰色谱图

Fig.2 Base peak chromatogram of blank solution (A) and quinoa saponin (B)

表2 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 鉴定藜麦三萜皂苷类成分的质谱数据

Table 2 Identification of triterpenoid saponins from quinoa by UPLC-Q-Exactive-MS/MS

编号	化合物鉴定	化学式	正离子模式 [M+H] ⁺	保留时间 (min)	dd-MS ² 扫描模式下碎片离子(m/z)			
					I	II	III	IV
1	Hederagenin 3-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1,3)- β -D-glucuronopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 常春藤皂苷元3-O-[α -L-吡喃阿拉伯糖-(1,3)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₈	929.51093	8.52	767.45898	635.41531	473.36304	
2	Phytolaccagenic acid 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₅	811.44692	8.79	649.39771	517.35339		
3	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,4)- β -D-glucopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,4)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,4)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₅₅ H ₈₈ O ₂₆	1165.56128	9.12	1003.51030	841.45740	679.40479	517.35272
4	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-galactopyranosyl-(1,3)- β -D-glucopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃半乳糖-(1,3)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₉ H ₇₈ O ₂₁	1003.51044	9.47	841.45624	679.40515	517.35291	
5	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- β -D-galactopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- β -D-吡喃半乳糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₉ H ₇₈ O ₂₁	1003.51013	9.86	841.45844	679.40558	517.35321	
6	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,2)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₅	1135.55347	10.29	973.50056	811.44745	649.39423	517.35278
7	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	973.50055	11.05	811.44836	649.39435	517.35333	
8	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-galactopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 常春藤皂苷元3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃半乳糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉	959.51984	11.27	797.46783	635.41577	473.36346	
9	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 常春藤皂苷元3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₈	929.51099	11.73	767.45789	605.40521	473.36298	
10	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,2)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 常春藤皂苷元3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₃	1091.56128	12.05	929.51116	767.45801	605.40508	473.36319
11	Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside 常春藤皂苷元3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃	767.45764	12.35	605.40472	473.36237		
12	Oleanolic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 齐墩果酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	913.51752	12.48	751.46002	589.40045	457.36682	

续表 2

编号	化合物鉴定	化学式	正离子模式 [M+H] ⁺	保留时间 (min)	dd-MS ² 扫描模式下碎片离子(m/z)			
					I	II	III	IV
13	Serjanic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside Serjanic acid 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	957.50568	13.41	795.45209	633.39984	501.35756	
14	Oleanolic acid 3-O- β -D-glucuronopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside 齐墩果酸3-O- β -D-吡喃葡萄糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	795.45297	13.44	633.39948	457.36593		
15	Oleanolic acid 3-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1,3)- β -D-glucuronopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 齐墩果酸3-O-[α -L-吡喃阿拉伯糖-(1,3)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	927.49304	14.02	765.44299	633.39995	457.36887	

1 个吡喃葡萄糖基产生 [M+H-Glc]⁺, m/z 517.35339 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 [M+H-Glc-Ara]⁺, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 商陆酸 3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Phytolaccagenic acid 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside)。

3 号峰, m/z 1165.56128[M+H]⁺, 推断其分子式为 C₅₅H₈₈O₂₆, 碎片离子 m/z 1003.51030, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 [M+H-Glc]⁺, m/z 841.45740 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc]⁺, m/z 679.40479 为母离子失去 3 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc-Glc]⁺, m/z 517.35272 为母离子失去 4 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc-Glc-Glc]⁺, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 商陆酸 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,4)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,4)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,4)- β -D-glucopyranosyl-(1,4)- β -D-glucopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

4 号峰, m/z 1003.51044[M+H]⁺, 推断其分子式为 C₄₉H₇₈O₂₁, 碎片离子 m/z 841.45624, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 [M+H-Glc]⁺, m/z 679.40515 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃半乳糖基形成 [M+H-Glc-Gal]⁺, m/z 517.35291 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃半乳糖基形成 [M+H-Glc-Gla-Glc]⁺, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 商陆酸 3-O-[β -D-吡喃半乳糖-(1,3)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-galactopyranosyl-(1,3)- β -D-glucopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

5 号峰, m/z 1003.51013[M+H]⁺, 推断其分子式为 C₄₉H₇₈O₂₁, 碎片离子 m/z 841.45844, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 [M+H-Glc]⁺, m/z 679.40558 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc]⁺, m/z 517.35321 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃半乳糖基形成 [M+H-Glc-Glc-Gal]⁺, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 商陆酸 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- β -D-吡喃半乳糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)-

β -D-galactopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

6 号峰, m/z 1135.55347[M+H]⁺, 推断其分子式为 C₅₄H₈₆O₂₅, 碎片离子 m/z 973.50056, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 [M+H-Glc]⁺, m/z 811.44745 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc]⁺, m/z 649.39423 为母离子失去 3 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc-Glc]⁺, m/z 517.35278 为母离子失去 3 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 [M+H-Glc-Glc-Glc-Ara]⁺, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 商陆酸 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,2)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

7 号峰, 化合物结构式如图 3A 所示, m/z 973.50055[M+H]⁺, 推断其分子式为 C₄₈H₇₆O₂₀, 在正离子模式下 7 号峰化合物裂解过程质谱图如图 3B 所示, 碎片离子 m/z 811.44836, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 [M+H-Glc]⁺, m/z 649.39435 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 [M+H-Glc-Glc]⁺, m/z 517.35333 为商陆酸型皂苷元, 在正离子模式下商陆酸型皂苷元裂解质谱图如图 3C 所示, m/z 517.35333 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 [M+H-Glc-Glc-Ara]⁺, m/z 499.34250 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基和 1 个 H₂O 形成 [M+H-Glc-Glc-Ara-H₂O]⁺, m/z 453.33667 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基、1 个 H₂O 和 1 个 HCOOH 形成 [M+H-Glc-Glc-Ara-H₂O-HCOOH]⁺, m/z 435.32576 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基、2 个 H₂O 和 1 个 HCOOH 形成 [M+H-Glc-Glc-Ara-H₂O-HCOOH-H₂O]⁺, m/z 293.17436 为母离子在高能量模式下由于不饱和双键所发生的 RDA 裂解后的主要碎片。7 号化合物裂解途径如图 3D 所示, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 商陆酸 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。质谱与结构结果见图 3。

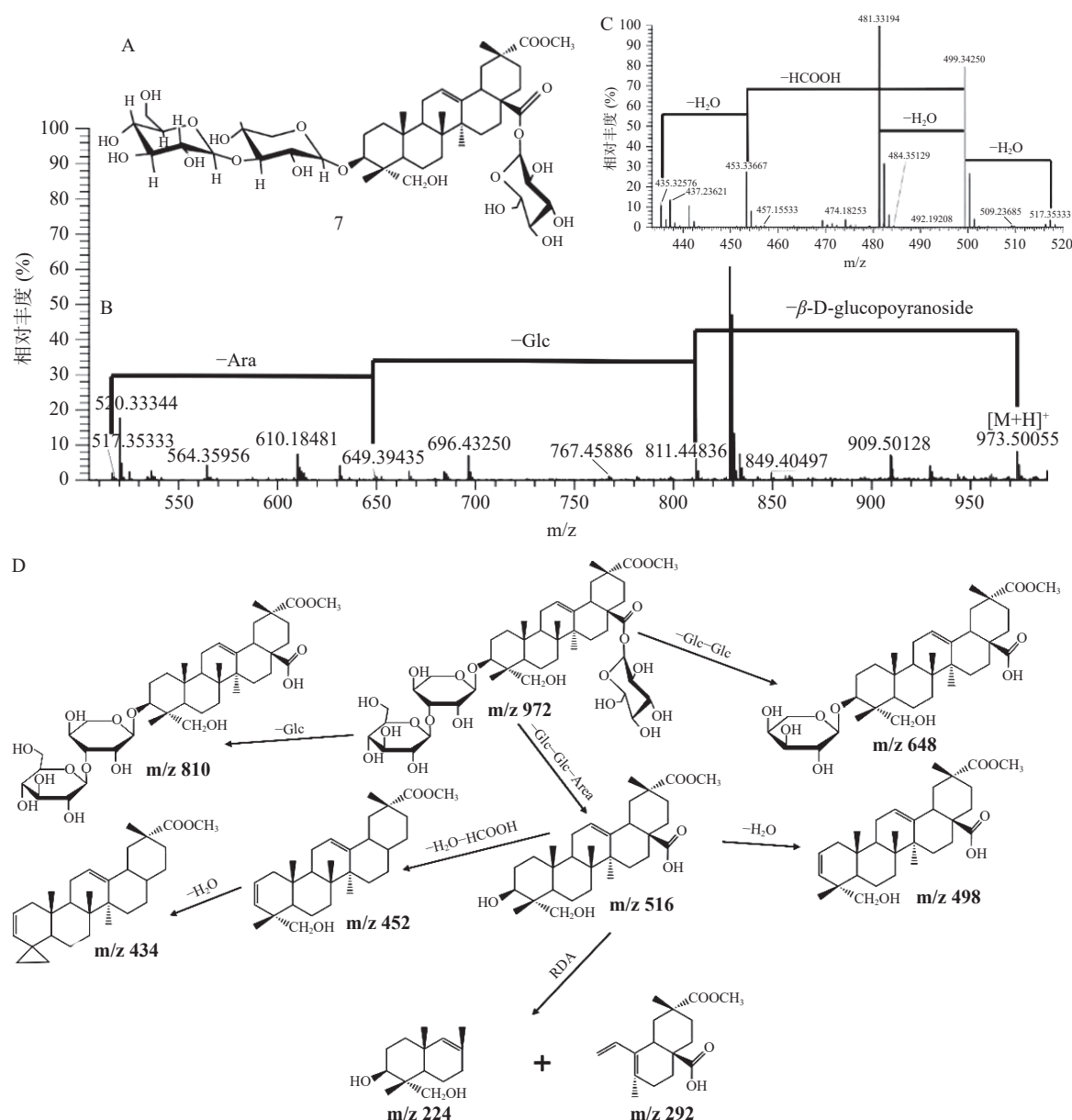


图3 在 Full ms/dd- ms^2 扫描模式和正离子模式下的 7 号商陆酸型皂苷的质谱图与结构图

Fig.3 Mass spectrum and structure diagram of Phytolaccagenic acid saponins No.7 in Full ms/dd- ms^2 scanning mode and positive ion mode

注: A: 7 号化合物的结构式; B: 正离子模式下商陆酸型皂苷元裂解质谱图; C: 正离子模式下 7 号化合物裂解质谱图; D: 7 号化合物裂解途径。

8 号峰, m/z 959.51984 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{48}H_{78}O_{19}$, 碎片离子 m/z 797.46783, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 635.41577 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc]^+$, m/z 473.36346 为母离子失去 3 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc-Glc]^+$, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 常春藤皂苷元 3-O- $[\beta$ -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃半乳糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(Hederagenin 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-galactopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

9 号峰, 化合物结构式如图 4A 所示, m/z 929.51099 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{47}H_{76}O_{18}$, 在正离子模式下 9 号峰化合物裂解过程质谱图如图 4B 所示, 碎片离子 m/z 767.45789, 为母离子失去 1 个吡

喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 605.40521 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc]^+$, m/z 473.36298 为常春藤型皂苷元, 在正离子模式下常春藤型皂苷元裂解质谱图如图 4C 所示, m/z 473.36298 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara]^+$, m/z 455.35211 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基和 1 个 H_2O 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O]^+$, m/z 409.34656 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基、1 个 H_2O 和 1 个 $HCOOH$ 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O-HCOOH]^+$, m/z 391.33593 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基、2 个 H_2O 和 1 个 $HCOOH$ 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O-HCOOH-H_2O]^+$, m/z 249.16497 为母离子在高

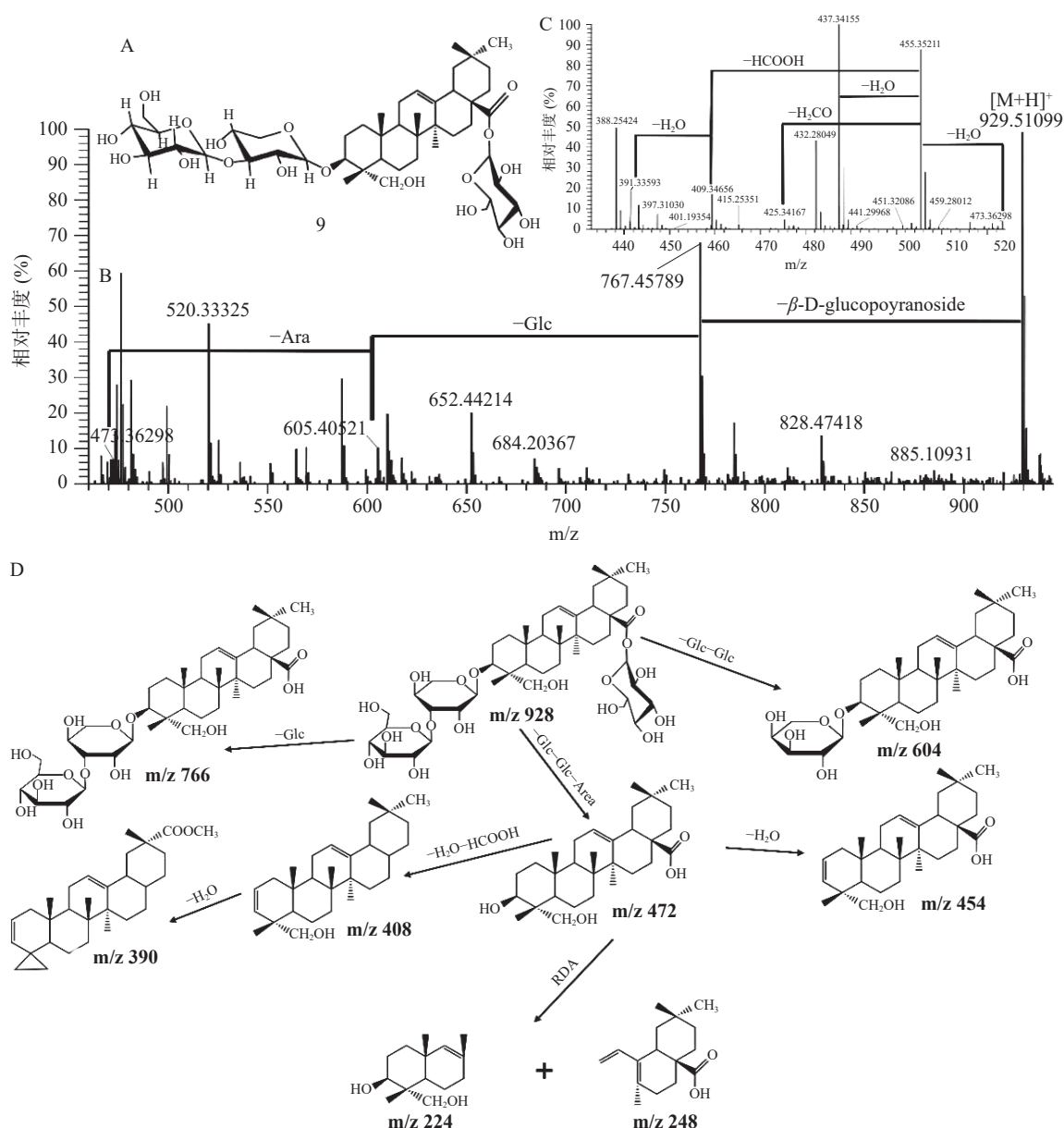


图 4 在 Full ms/dd- ms^2 扫描模式和正离子模式下的 9 号常春藤型皂苷的质谱图与结构图

Fig.4 Mass spectrum and structure diagram of Hederagenin saponins No.9 in Full ms/dd- ms^2 scanning mode and positive ion mode
注: A: 9 号化合物的结构式; B: 正离子模式下常春藤型皂苷元裂解质谱图; C: 正离子模式下 9 号化合物裂解质谱图; D: 9 号化合物裂解途径。

能量模式下由于不饱和双键所发生的 RDA 裂解后的主要碎片。9 号化合物裂解途径如图 4D 所示, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 常春藤皂苷元 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。质谱与结构结果见图 4。

10 号峰, m/z 1091.56128 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{53}H_{86}O_{23}$, 碎片离子 m/z 929.51160, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 767.45801 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc]^+$, m/z 605.40508 为母离子失去 3 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc-Glc]^+$, m/z 473.36319 为母离子失去 3 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-Glc-Glc-Glc-Ara]^+$ 结合文献报道^[23-27] 鉴定

为: 常春藤皂苷元 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖 (Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,2)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

11 号峰, m/z 765.45764 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{41}H_{66}O_{13}$, 碎片离子 m/z 605.40472, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 473.36237 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-Glc-Ara]^+$, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 常春藤皂苷元 3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside)。

12 号峰, 化合物结构式如图 5A 所示, m/z 913.51752 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{47}H_{76}O_{17}$, 在正

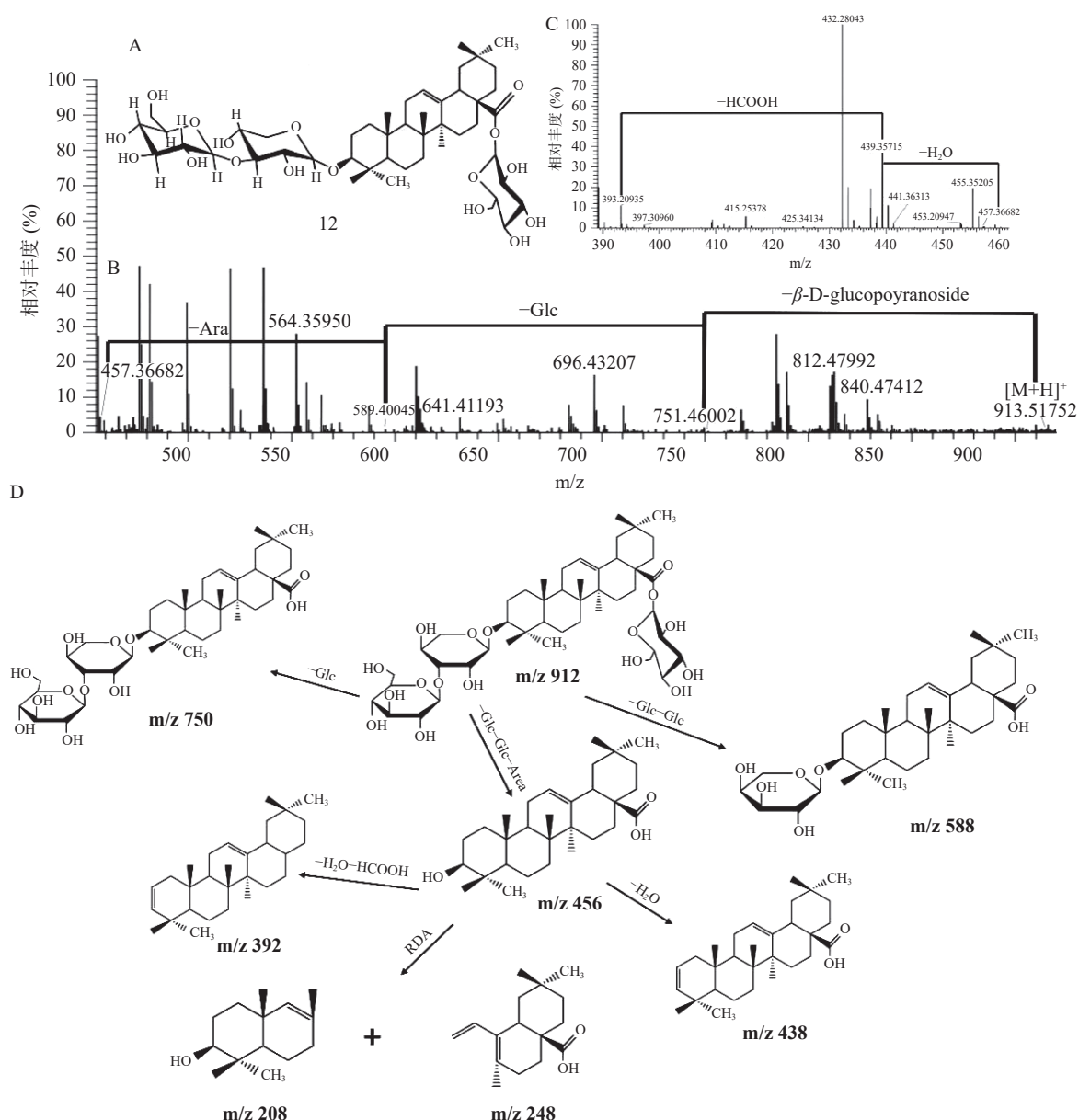


图5 在 Full ms/dd- m/z^2 扫描模式和正离子模式下的 12 号齐墩果酸型皂苷的质谱图与结构图

Fig.5 Mass spectrum and structure diagram of Oleanolic acid saponin No.12 in Full ms/dd- m/z^2 scanning mode and positive ion mode
注: A: 12 号化合物的结构式; B: 正离子模式下齐墩果酸型皂苷元裂解质谱图; C: 正离子模式下 12 号化合物裂解质谱图; D: 12 号化合物裂解途径。

离子模式下 12 号峰化合物裂解过程质谱图如图 5B 所示, 碎片离子 m/z 751.46002, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 589.40045 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc]^+$, m/z 457.36682 为齐墩果酸型皂苷元, 在正离子模式下齐墩果酸型皂苷元裂解质谱图如图 5C 所示, m/z 457.36682 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara]^+$, m/z 439.35715 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基和 1 个 H_2O 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O]^+$, m/z 393.20935 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基、1 个 H_2O 和 1 个 $HCOOH$ 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O-HCOOH]^+$, m/z 249.18503 为母离子在高能量模式下由于不饱和双键所发生的 RDA 裂解后的主要碎片。12 号化合物裂解途径如

图 5D 所示, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 齐墩果酸 3-O- $[\beta$ -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Oleanolic acid 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。质谱与结构结果见图 5。

13 号峰, 化合物结构式如图 6A 所示, m/z 957.50568 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{48}H_{76}O_{19}$, 在正离子模式下 13 号峰化合物裂解过程质谱图如图 6B 所示, 碎片离子 m/z 795.45209, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 633.39984 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基形成 $[M+H-Glc-Glc]^+$, m/z 501.35756 为 Serjania acid 型皂苷元, 在正离子模式下 Serjania acid 型皂苷元裂解质谱图如图 6C 所示, m/z 501.35756 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara]^+$,

m/z 483.34775 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基和 1 个 H_2O 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O]^+$, m/z 437.34161 为母离子失去 2 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基、1 个 H_2O 和 1 个 $HCOOH$ 形成 $[M+H-Glc-Glc-Ara-H_2O-HCOOH]^+$, m/z 293.17459 为母离子在低能量模式下由于不饱和双键所发生的 RDA 裂解后的主要碎片。13 号化合物裂解途径如图 6D 所示, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: Serjanic acid 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(Serjanic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。质谱与结构结果见图 6。

14 号峰, m/z 795.45297 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{42}H_{66}O_{14}$, 碎片离子 m/z 633.39948, 为母离子失去

1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 457.36593 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃葡萄糖醛酸基形成 $[M+H-Glc-GlcA]^+$, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 齐墩果酸 3-O- β -D-吡喃葡萄糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(Oleanolic acid 3-O- β -D-glucopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside)。

15 号峰, m/z 927.49304 $[M+H]^+$, 推断其分子式为 $C_{47}H_{74}O_{18}$, 碎片离子 m/z 765.44299, 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基产生 $[M+H-Glc]^+$, m/z 633.39995 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基和 1 个吡喃阿拉伯糖基形成 $[M+H-Glc-Ara]^+$, m/z 457.36887 为母离子失去 1 个吡喃葡萄糖基、1 个吡喃阿拉伯糖基和 1 个吡喃葡萄糖醛酸基形成 $[M+H-Glc-Ara-GlcA]^+$, 结合文献报道^[23-27] 鉴定为: 齐墩果酸 3-O-[α -L-吡喃

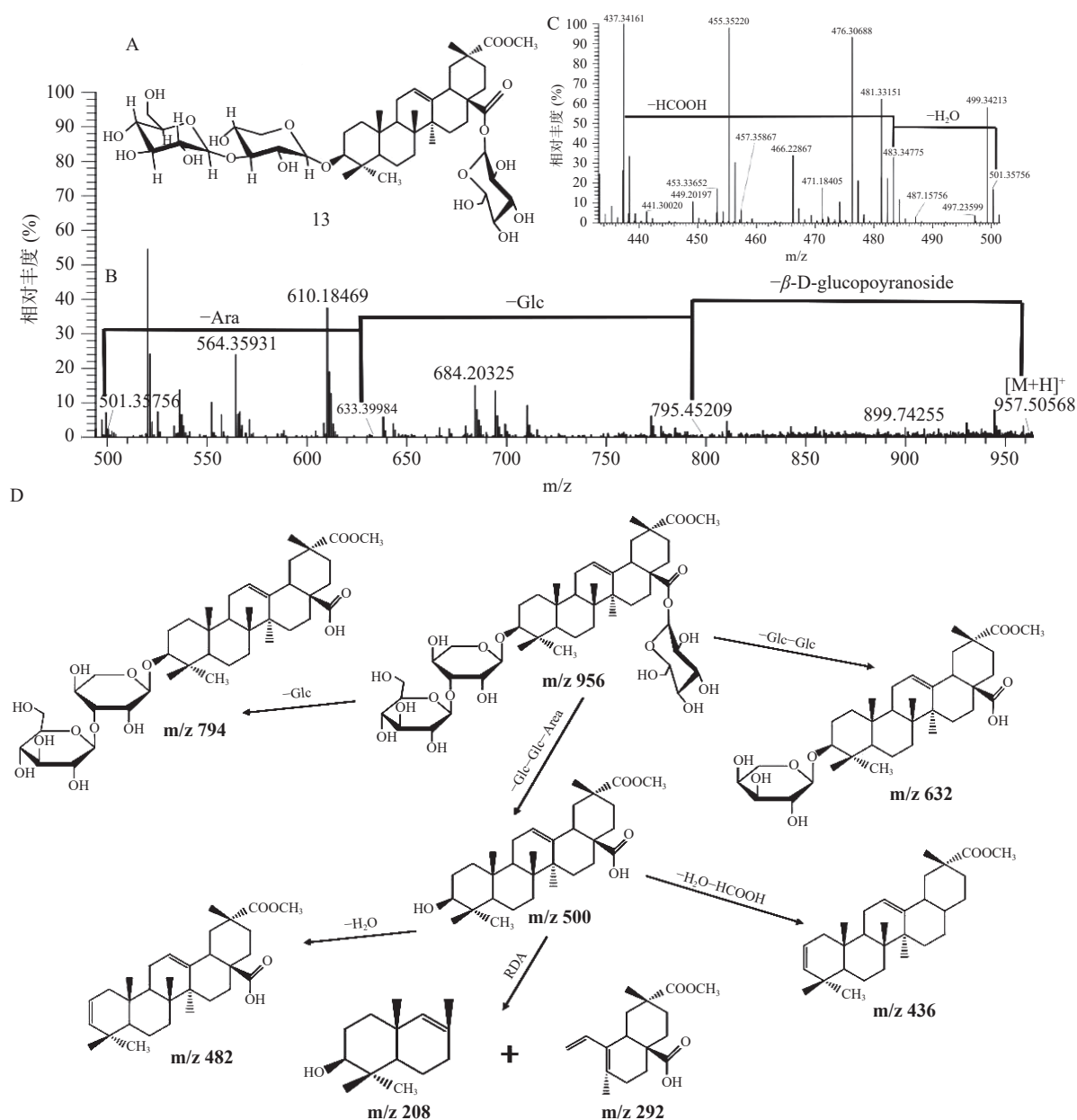


图 6 在 Full ms/dd- ms^2 扫描模式和正离子模式下的 13 号 Serjanic acid 型皂苷质谱图与结构图

Fig.6 Mass spectrum and structure diagram of Serjanic acid saponin No.13 in Full ms/dd- ms^2 scanning mode and positive ion mode
注: A: 13 号化合物的结构式; B: 正离子模式下齐 Serjanic acid 型皂苷元裂解质谱图; C: 正离子模式下 13 号化合物裂解质谱图; D: 13 号化合物裂解途径。

阿拉伯糖-(1,3)- β -D-吡喃葡萄糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Oleanolic acid 3-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1,3)- β -D-glucuronopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside)。

2.4 大鼠血浆中入血成分分析

运用 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术分别对不同时间点大鼠血浆中入血成分进行分析,通过对比空白与含药样品色谱峰的保留时间及质谱数据,并通过样品峰面积与内标物盐酸丁螺环酮($C_{21}H_{32}ClN_5O_2$, m/z 422.2239)峰面积的比值,反映出皂苷在大鼠体内随时间变化的代谢情况^[28],在结果中共检测到原型皂苷 6 个。入血成分信息见表 3,大鼠血浆入血成分相对峰面积结果见图 7。

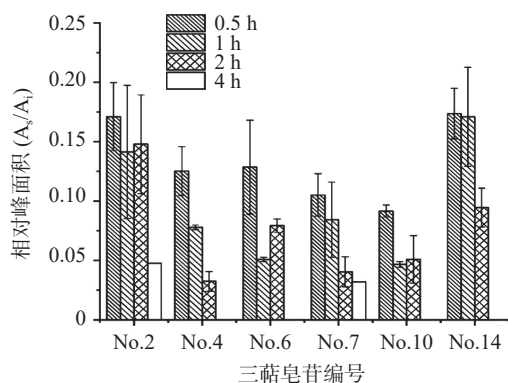


图 7 大鼠血浆入血成分相对峰面积

Fig.7 Relative peak area of rat plasma entry components

注: A_s : 待测物峰面积; A_i : 内标物峰面积。

本实验在给药后大鼠血浆中检测到部分藜麦皂苷的原型化合物,发现其在体内富集程度随时间变化而降低,在 4 h 后大鼠血浆中基本检测不到原型药物。同时在保留时间为 17.46 min 和 25.79 min 时分别检测到含量极低的 Serjanic acid 和常春藤皂苷元,推测在大鼠胃肠道内原型皂苷经多种肠道菌群及不同的药物代谢酶作用下水解为其原型苷元^[29]。同时表明三萜皂苷的体内代谢产物与原型化学成分通常表现出相同的质谱裂解规律但部分化合物在体内生物转化后代代谢产物较少,这可能与提取物中化合物的含量少、响应度低以及体内代谢产物含量较低未能被检测到有关。

3 讨论与结论

本实验提取了藜麦中天然产物皂苷,并对藜麦皂苷粗提取物化学成分及入血成分进行鉴定。基于 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术并结合 Xcalibur Qual Browser 软件进行分析,结果显示在藜麦粗提取物中共鉴定到 15 种三萜类皂苷成分,其中齐墩果酸型皂苷 3 种,常春藤型皂苷 5 种,商陆酸型皂苷 6 种, Serjanic acid 型皂苷 1 种。目前有研究指出皂苷具有溶血性,因此本研究对藜麦皂苷提取物在大鼠体内代谢情况进行分析。由于生物样本中具有复杂机制,容易造成关键信息缺失,本实验开展了大鼠血浆样本前处理考察及方法学验证,样本前处理考察发现以甲醇作为蛋白沉淀剂具有良好的结果,最终确立了甲醇作为蛋白沉淀剂,以及 300 μ L 最佳添加量。方法学考察结果中 RSD 值均小于 10%,生物样本制备符合 2020

表 3 大鼠血浆入血成分相对峰面积

Table 3 Relative peak area of rat plasma entry components

编号	化合物鉴定	化学式	模式[M-H] ⁻	保留时间 t_R (min)	相对峰面积(A_s/A_i)			
					0.5 h	1 h	2 h	4 h
2	Phytolaccagenic acid 3-O- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{42}H_{66}O_{15}$	809.43289	11.27	0.17098 $\pm$ 0.02866	0.14143 $\pm$ 0.05608	0.14780 $\pm$ 0.04169	0.04774
5	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- β -D-galactopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- β -D-吡喃半乳糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{49}H_{78}O_{21}$	1001.49628	9.88	0.12522 $\pm$ 0.02067	0.07786 $\pm$ 0.00196	0.03245 $\pm$ 0.00825	
6	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,2)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{54}H_{86}O_{25}$	1133.53854	10.28	0.12859 $\pm$ 0.03949	0.05083 $\pm$ 0.00175	0.00794 $\pm$ 0.00563	
7	Phytolaccagenic acid 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 商陆酸3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{48}H_{76}O_{20}$	971.48572	10.34	0.10510 $\pm$ 0.01793	0.08419 $\pm$ 0.03161	0.04042 $\pm$ 0.01253	0.03210
10	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1,2)- β -D-glucopyranosyl-(1,3)- α -L-arabinopyranosyl]-28-O- β -D-glucopyranoside 常春藤皂苷元3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1,2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1,3)- α -L-吡喃阿拉伯糖]-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{53}H_{86}O_{23}$	1089.54871	11.42	0.09150 $\pm$ 0.00513	0.04665 $\pm$ 0.00243	0.05090 $\pm$ 0.02008	
14	Oleanolic acid 3-O- β -D-glucuronopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranoside 齐墩果酸3-O- β -D-吡喃葡萄糖-28-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{42}H_{66}O_{14}$	793.43798	12.69	0.17367 $\pm$ 0.02133	0.17086 $\pm$ 0.04170	0.09452 $\pm$ 0.01630	

年版《中国药典》^[20] 三部中生物制品国家标准物质制备和标定的要求。对入血成分分析时发现,在 0 小时 6 个原型物入血,分别为 2、5、6、7、10 和 14 号皂苷化合物。6 种入血成分含量在大鼠体内富集程度随时间增长呈下降趋势,在体内 4 h 后,基本检测不到皂苷原型药物,仅检测到极低的 Serjanic acid 和常春藤皂苷元的质谱信号,分析其原因可能与提取物中化合物含量较少、响应度低以及大鼠体内代谢产物含量较低未能检出到有关^[30]。

本研究参照《中国健康生活方式预防心血管代谢疾病指南》^[31] 建议,成年人每日应摄入 50~150 g 粗粮。以 60 kg 成人每日摄入量 150 g 计,并根据大鼠与人给药剂量换算得到灌胃量,以 $175.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给予藜麦皂苷提取物。通过样品峰面积与内标峰峰面积的比值对皂苷在大鼠体内代谢情况进行分析,发现在大鼠体内 4 h 后,基本检测不到皂苷原型药物。这一结果与刘颖等^[32] 结果一致,他们发现将麦冬皂苷口服灌胃后,大鼠血浆中共鉴定到 8 个入血成分,且均为原型药物,并未找到相关代谢产物。同时在给药后大鼠血浆中检测到极低的 Serjanic acid 和常春藤皂苷元的质谱信号,推测具有糖苷键的原型皂苷可能会在动物体内水解成其苷元^[33],而苷元相比于原型具有较小的相对分子质量,脂溶性增加,或许更易通过肠道转运进入体循环中^[34]。陈原国等^[35] 研究也证明,将蒺藜皂苷粗提物灌胃后,蒺藜皂苷在大鼠胃内酸性条件下会有水解现象发生,并有相当部分转化为海柯皂苷元形式并被肝脏所吸收。HE 等^[36] 也指出在肠道菌群的作用下,皂苷在体内的生物转化可能发生一系列结构变化,主要是由逐步脱糖过程引起的,生成的转化产物比原始皂苷具有更好的生物利用度或更强的生物活性^[37]。本研究中大鼠灌胃后血浆各采血点中并未检测到齐墩果酸苷元与商陆酸苷元,其原因可能与齐墩果酸型皂苷与商陆酸型皂苷在体内转化率有关,在体内吸收少,血浆中含量低于定量下限而未能检测到^[38]。综上所述,本实验鉴定出藜麦粗提物中 15 种皂苷,并确定了藜麦皂苷中 6 种入血成分,进一步明确了藜麦皂苷的化学结构信息与体内代谢过程,为藜麦皂苷抗营养因子研究提供了理论基础与实验依据,对阐明藜麦皂苷药效物质基础具有重要意义,但本实验未能明确藜麦皂苷生物利用度及体内吸收机制,有待进一步研究。

参考文献

[1] 胡一晨,赵钢,秦培友,等. 藜麦活性成分研究进展[J]. 作物学报,2018,44(11): 1579-1591. [HU Y C, ZHAO G, QIN P Y, et al. Research progress on bioactive components of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44(11): 1579-1591.]

[2] 王龙飞,王新伟,赵仁勇. 藜麦蛋白的特点、性质及提取的研究进展[J]. 食品工业,2017,38(7): 255-258. [WANG L F, WANG X W, ZHAO R Y. A review of characteristic, properties and extraction of quinoa protein[J]. *The Food Industry*, 2017, 38(7): 255-

258.]

[3] 黄金. 基于藜麦营养及功能成分的健康食品研发[D]. 贵阳: 贵州大学, 2017. [HUANG J. The research of health food on the based of the quinoa nutritional and functional ingredient[D]. Guiyang: Guizhou University, 2017.]

[4] 李萍,罗强,金鑫,等. 藜麦皂苷的提取及其酪氨酸酶抑制活性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(5): 196-202,129. [LI P, LUO Q, JIN X, et al. Separation of saponins from *Chenopodium quinoa* and its tyrosinase inhibitory activities[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(5): 196-202,129.]

[5] 魏爱春,杨修仕,么杨,等. 藜麦营养成分及生物活性研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 272-276. [WEI A C, YANG X S, YAO Y, et al. Progress in research on nutritional and functional components and bioactivity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Food Science*, 2015, 36(15): 272-276.]

[6] PALOMBINI S V, CLAUS T, MARUYAMA S A, et al. Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars[J]. *Food Science and Technology*, 2013, 33(2): 339-344.

[7] MERILLON J M, RAMAWAT K G. Co-Evolution of secondary metabolites[M]. Berlin: Springer, 2019.

[8] MADL T, STERK H, MITTELBACH M, et al. Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of *Chenopodium quinoa*[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2006, 17(6): 795-806.

[9] 张剑峰,张丹参. 三七总皂苷药理作用研究进展[J]. 医学综述, 2007, 13(6): 472-474. [ZHANG J F, ZHANG D S. Study advancement in pharmacological actions of total saponins of panax notoginseng[J]. *Medical Recapitulate*, 2007, 13(6): 472-474.]

[10] HAZZAM K E, HAFSA J, SOBEH M, et al. An insight into saponins from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): A review[J]. *Molecules*, 2020, 25(5): 1059.

[11] 侯召华,傅茂润,张威毅,等. 藜麦皂苷研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(19): 5146-5152. [HOU Z H, FU M R, ZHANG W Y, et al. Research progress on saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2018, 9(19): 5146-5152.]

[12] GIANNA V, MONTES J M, CALANDRI E L, et al. Impact of several variables on the microwave extraction of *Chenopodium quinoa* Willd saponins[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2012, 47(8): 1593-1597.

[13] 杜静婷. 藜麦种皮皂苷的提取、纯化、抗氧化、抑菌及皂苷元的成分鉴定[D]. 太原: 山西大学, 2017. [DU J T. Extraction, purification, antioxidant and antimicrobial of saponin in *Chenopodium quinoa* Willd. seed coat and component identification of aglycone[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2017.]

[14] ODA K, MATSUDA H, MURAKAMI T, et al. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants[J]. *Biological Chemistry*, 2000, 381(1): 67-74.

[15] 张若洁. 芦笋皂苷的提取、纯化及其溶血活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011. [ZHANG R J. Studies on the extraction, purification and hemocytolysis of asparagus saponins[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011.]

[16] LIANG Y, HAO H P, XIE L, et al. Development of a systematic approach to identify metabolites for herbal homologs based on liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry: Gender-related difference in metabolism of *Schisandra lignans*

- in rats[J]. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 2010, 38(10): 1747–1759.
- [17] VERZA S G, SILVEIRA F, CIBULSKI S, et al. Immunoadjuvant activity, toxicity assays, and determination by UPLC/Q-TOF-MS of triterpenic saponins from *Chenopodium quinoa* seeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(12): 3113.
- [18] GORAL I, WOJCIECHOWSKI K. Surface activity and foaming properties of saponin-rich plants extracts[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2020, 279: 102145.
- [19] 王勇, 张宪臣, 华洪波, 等. 超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱联用快速测定水产品及其干制水产品制品中的116种农药和24种生物毒素残留[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(1): 371–389, 335. [WANG Y, ZHANG X C, HUA H B, et al. Simultaneous determination and confirmation of 116 pesticides residues and 24 biotoxins in aquatic product and dried aquatic product by ultra liquid chromatography coupled with quadrupole/exact orbitrap mass spectrometry[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(1): 371–389, 335.]
- [20] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020]
- [21] COLSON E, SAVARINO P, CLAEREBOUDT E, et al. Enhancing the membranolytic activity of *Chenopodium quinoa* saponins by fast microwave hydrolysis[J]. *Molecules*, 2020, 25(7): 1731.
- [22] 傅俊. 牛膝三萜皂苷类成分定性分析及其体内外代谢初步研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2019. [FU J. Qualitative analysis of triterpenoid saponins from *Achyranthes bidentata* and preliminary study on metabolism *in vitro* and *in vivo*[D]. Hefei: Anhui University of Traditional Chinese Medicine, 2019.]
- [23] ZHU N Q, SHENG S Q, SANG S M, et al. Triterpene saponins from debittered quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(4): 865–867.
- [24] KULJANABHAGAVAD T, THONGPHASUK P, CHAMULITRAT W, et al. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd[J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(9): 1919–1926.
- [25] WOLDEMICHAEAL G M, WINK M. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(5): 2327–2332.
- [26] MA W W, HEINSTEIN F, MCLAUGHLIN J L. Additional toxic, bitter saponins from the seeds of *Chenopodium quinoa* [J]. *Journal of Natural Products*, 1989, 52(5): 1132–1135.
- [27] DINI I, TENORE G C, SCHETTINO O, et al. New oleanane saponins in *Chenopodium quinoa*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(8): 3976–3981.
- [28] 黄晶. 基于UPLC/Q-TOF-MS技术的蜜炙黄芪大鼠体内代谢成分分析[D]. 广州: 广东药科大学, 2017. [HUANG J. Analysis of metabolites of honey-processed astragalus in rats based on UPLC/Q-TOF-MS[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2017.]
- [29] 张勤. 基于UPLC/Q-TOF技术的独一味化学成分与血清代谢物分析及抗炎活性研究[D]. 西宁: 青海师范大学, 2021. [ZHANG M. Analysis of chemical constituents and serum metabolites of *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo and their anti-inflammatory activities based on UPLC/Q-TOF Technology[D]. Xining: Qinghai Normal University, 2021.]
- [30] 马保连, 李军茂, 何明珍, 等. 基于UHPLC-Q-TOF/MS的预知子入血成分及其体内代谢研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(11): 1350–1359. [MA B L, LI J M, HE M Z, et al. *In vivo* studies of the metabolites of *Akebiae Fructus* extract based on UHPLC-Q-TOF/MS method[J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2020, 31(11): 1350–1359.]
- [31] 顾东风, 翁建平, 鲁向锋. 中国健康生活方式预防心血管代谢疾病指南[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(3): 209–230. [GU D F, WENG J P, LU X F. Chinese guideline on healthy lifestyle to prevent cardiometabolic diseases[J]. *Chinese Circulation Journal*, 2020, 35(3): 209–230.]
- [32] 刘颖, 蔡伟, 李宁, 等. UHPLC-LTQ-Orbitrap MS结合高能碰撞诱导裂解技术快速鉴定大鼠口服麦冬甾体皂苷后的血中移行成分[J]. 药学学报, 2016, 51(11): 1751–1758. [LIU Y, CAI W, LI N, et al. Rapid characterization of constituents absorbed into blood after oral administration of steroidal saponins from *Radix ophiopogonis* using UHPLC-LTQ-Orbitrap MS coupled with higher energy collision induced dissociation[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2016, 51(11): 1751–1758.]
- [33] LIN B J, QI X, FANG L, et al. *In vivo* acute toxicity and mutagenic analysis of crude saponins from *Chenopodium quinoa* Willd husks[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(8): 4829–4841.
- [34] 宋登鹏, 王雪芹, 王永慧, 等. 柴胡皂苷类化合物体内代谢途径及其代谢产物的研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(7): 1460–1465. [SONG D P, WANG X Q, WANG Y Q, et al. Research progress on metabolic pathways *in vivo* and their metabolites of saikosaponin[J]. *Drug Evaluation Research*, 2019, 42(7): 1460–1465.]
- [35] 陈原国, 瞿伟菁, 杨乃乙, 等. 蒺藜总皂苷灌胃大鼠体内海柯皂苷元的代谢与分布[J]. *天然产物研究与开发*, 2006(6): 927–931. [CHEN Y G, QU W J, YANG N Y, et al. Metabolism and distribution of hecogenin in rats after intragastric infusion with saponins of *Tribulus terrestris* L.[J]. *Natural Product Research and Development*, 2006(6): 927–931.]
- [36] HE Y, HU Z Y, LI A R, et al. Recent advances in biotransformation of saponins[J]. *Molecules*, 2019, 24(13): 2365.
- [37] HIEERO J N, HERRERA T, FORNARI T, et al. The gastrointestinal behavior of saponins and its significance for their bioavailability and bioactivities[J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 40(12): 484–497.
- [38] 刘晨希. 齐墩果酸衍生物HA-19在大鼠体内药代动力学及其组织分布研究[D]. 南京: 南京大学, 2018. [LIU C X. Pharmacokinetics and tissue distribution of oleanolic acid derivative HA-19 in rats[D]. Nanjing: Nanjing University, 2018.]