

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和分子网络技术快速鉴定 芦笋茎皮中的化学成分

卫 瑞, 杨琳娇, 秦雪梅, 李震宇*

(山西大学化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006)

摘要: 本研究采用超高效液相-四级杆-飞行时间高分辨质谱联用 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 结合分子网络技术快速分析鉴定两种芦笋茎皮中的化学成分。通过化合物精确分子量、MS/MS 裂解规律和文献报道数据等信息对两种芦笋茎皮中的化学成分进行鉴定, 并根据 MS/MS 碎片的相似性创建分子网络。两种芦笋茎皮共鉴定 107 个化合物, 包括皂苷类化合物 46 个、黄酮类化合物 13 个, 有机酸类、氨基酸类和糖类等其他类成分 48 个。两种芦笋茎皮成分种类差异明显, 白笋茎皮中富含皂苷类成分, 而绿笋茎皮中富含黄酮类成分。本研究运用液质联用结合分子网络技术对芦笋茎皮中的化学成分进行快速分析, 利用 HIT 2.0 中草药成分靶点数据库结合文献报道确定了芦笋茎皮中 10 个皂苷和黄酮类成分对乳腺癌的 45 个作用靶点, 为芦笋资源的开发利用奠定了理论基础。

关键词: 芦笋茎皮; 化学成分; 定性分析; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 分子网络

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)09-2839-12

Rapid identification of chemical constituents in the dried stem bark of *Asparagus officinalis* L. based on UPLC-Q-TOF-MS/MS

WEI Rui, YANG Lin-jiao, QIN Xue-mei, LI Zhen-yu*

(Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, the Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) coupled with a molecular network analysis strategy was used to identify the chemical constituents of the stem bark of two kinds of asparagus. The chemical constituents were identified by determining an accurate molecular weight, the fragmentation pathway, and comparison with the mass spectrometry data from the references. A molecular network was established based on the similarity of MS/MS fragmentation patterns. A total of 107 compounds were identified or tentatively deduced, which included 46 saponins, 13 flavonoids, and 48 other compounds. The chemical compounds identified in the stem bark of white and green asparagus differed greatly: the white asparagus was rich in saponins, while the green asparagus was rich in flavonoids. In conclusion, the chemical constituents of asparagus stem bark were characterized rapidly using UPLC-Q-TOF-MS/MS and molecular network analysis, with 10 compounds and 45 targets determined from the HIT 2.0 herbal ingredients' targets platform. This work will provide a theoretical basis for the resource utilization of asparagus.

Key words: asparagus stem bark; chemical constituent; qualitative analysis; UPLC-Q-TOF-MS/MS; molecular network

收稿日期: 2022-05-26; 修回日期: 2022-07-19.

基金项目: 山西省科技成果转化引导专项项目 (201904D131027).

*通讯作者 Tel: 86-351-7011202, E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0652

芦笋 (*Asparagus officinalis* L.), 天门冬科天门冬属植物, 又名石刁柏, 有益气、化热、清痰、润肺、利尿等功效^[1]。芦笋以嫩茎作为蔬菜食用, 最为常见的有白笋和绿笋, 未出土的呈白色称为白笋, 出土后照到阳光芦笋就会呈现出绿色, 称之为绿笋^[2]。研究表明, 芦笋中富含多种生物活性成分, 主要包括皂苷类化合物、黄酮类化合物和多糖类化合物。此外, 芦笋中还含有氨基酸、脂肪酸、维生素和微量元素等^[2]。芦笋中这些化学成分具有抗肿瘤、免疫调节、调节血脂、抗衰老、抗疲劳等方面的生物功能^[2,3], 已有文献^[4,5]报道芦笋老茎中的提取物对乳腺癌细胞具有明显的抑制作用, 芦笋有抑制小鼠原发性乳腺癌肿瘤生长的作用^[6]。芦笋除了供新鲜食用外, 主要用于加工罐头和速冻食品, 而在加工过程中, 会产生大量的老茎和芦笋皮等废弃物, 收获芦笋后也有大量的老茎无法利用^[7]。研究表明, 芦笋茎皮废弃物中含有丰富的皂苷类、黄酮类成分等^[7,8], 已有研究从芦笋茎皮中制备得到总黄酮或总皂苷^[8-10]。对白笋和绿笋茎皮所含的化学成分进行系统的化学分析, 可以更精准地对其进行资源开发和合理利用。

UPLC-Q-TOF-MS/MS 高分辨质谱具有高分辨、高分离度、高灵敏度的特点, 通过分析化合物的相对分子质量、裂解碎片等信息, 可快速识别中药复杂体系中各类化学成分, 如铁皮石斛^[11]、山楂叶^[12]、五味子藤茎^[13]、龙葵^[14]等。Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) 是由 Watrous 等创建的分子网络数据库 (<http://gnps.ucsd.edu>), 根据相关化合物的 MS/MS 二级质谱碎片的相似性, 同一类化合物分子会在一个分子网络中聚集成簇并进行可视化定性分析^[15,16]。近年来研究表明, 该技术的应用能够加速对天然药物中未知化合物的指认。如 Huang 等^[17]基于 GNPS 分子网络方法鉴定了夏天无的异喹啉类生物碱成分 52 个, 其中包括 21 个潜在的新化合物; Zhao 等^[18]基于 GNPS 质谱分子网络策略, 从岷江瑞香中靶向分离获得 3 个结构新颖的愈创木烷衍生物。

HIT 2.0 中草药成分靶点数据库 (<http://hit2.badd-cao.net>) 涵盖了 2000~2020 年之间 PubMed 数据库 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中已发表文献中所有通过实验验证的中药成分-靶点关系, 以及化合物对靶点的调节趋势。目前该数据库收录 1 250 种草药的 1 237 个化合物, 2 208 个靶点, 以及 10 031 个化合物-靶点作用关系^[9]。此外, HIT 2.0 还支持从 PubMed 数据库中最新发布的文献中进行手动靶点检索, 为中药活性成分作用靶点的确定提供了有力的支持。

本研究拟采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 GNPS 分子网络技术对白笋、绿笋茎皮中的化学成分进行快速

分析和鉴定, 并利用 HIT 2.0 中草药成分靶点数据库分析芦笋茎皮中的化学成分对乳腺癌的作用靶点, 为芦笋茎皮的资源合理利用奠定基础。

材料与方法

仪器 Agilent 1290 超高效液相色谱仪 (美国 Agilent Technologies 公司); QTOF 5600+四极杆飞行时间质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司); KQ5200E 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

试剂与样品 白笋、绿笋茎皮购买于山西省永济市耀辉绿色芦笋种植专业合作社, 样品经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定为天门冬科天门冬属植物芦笋 (*Asparagus officinalis* L.) 的茎皮, 留样保存于山西大学中医药现代研究中心; 甲醇 (分析级, 天津市大茂化学试剂厂), 甲酸、乙腈 (质谱级, 美国 Thermo 公司), 超纯水由 Milli-Q 纯净水系统 (美国 Millipore 公司) 制备。

供试品溶液的制备 取干燥的白笋、绿笋茎皮粉末各 5 g, 分别置于具塞锥形瓶中, 加入 50% 甲醇溶液 50 mL, 超声提取 30 min, 放冷, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 待用。

对照品溶液的制备 取对照品山柰酚、槲皮素、异鼠李素、芦丁各 2 mg, 用 2 mL 甲醇溶解, 得到各对照品储备液。各取 200 μL 混匀, 用 50% 甲醇溶液定容至 5 mL, 即得混合对照品溶液。

色谱条件 色谱柱: Waters Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~10 min, 2%~15% B; 10~20 min, 15%~25% B; 20~25 min, 25%~40% B; 25~30 min, 40%~80% B; 30~32 min, 80%~95% B; 32~35 min, 95%~95% B; 35~39 min, 95%~2% B; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速 0.3 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 进样体积 5 μL 。

质谱条件 电喷雾离子源 (ESI), 采用正负离子模式分别扫描, 离子源参数如下: 喷雾电压-4 500 V (负离子), 5 500 V (正离子), 离子源温度 450 $^{\circ}\text{C}$, 喷雾气 (Gas 1) 55 psi, 加热气 (Gas 2) 55 psi, 气帘气 (CUR) 30 psi, 去簇电压 (DP) 60 V, 二级碰撞能量 (CE) 为 40 eV, CEs 为 20 eV。TOF MS 一级扫描范围为 m/z 100~1 500, Production scan 二级扫描范围为 m/z 50~1 250。

自建数据库的建立与 SCIEX 中药数据库的使用 查阅芦笋的相关文献, 整理并建立芦笋中皂苷类和黄酮类化合物信息数据库, 包括化合物名称、分子式、精确相对分子质量等信息。采用 SCIEX OS 2.0 软件进行峰提取、峰匹配分析处理, 在满足质量偏差 ≤ 5 , 同位素丰度比 ≤ 5 的基础上, 与文献中化合物的准分子

离子峰、碎片裂解规律进行比对分析, 最终鉴定化合物的结构。此外, 采用SCIEX中药数据库进一步鉴定, 通过SCIEX OS 2.0软件进行峰提取、峰匹配, 在满足质量误差 ≤ 5 , 同位素丰度比 ≤ 5 , 数据库匹配得分 ≥ 85 的基础上, 比对化合物的二级碎片, 对白笋、绿笋茎皮中的其他类成分进行快速鉴定。

GNPS分子网络的建立 正离子模式下白笋、绿笋茎皮样品的UPLC-Q-TOF MS/MS质谱数据文件, 先通过MS Convert软件转换为mzML文件格式, 登录WinSCP软件将mzML格式的文件上传至GNPS, 建立GNPS网络; Precursor Ion Mass Tolerance和Fragment Ion Mass Tolerance的质量误差设置为0.02 Da, 余弦分数阈值设置为0.7, 最小匹配碎片离子为6, 其余参数均选择默认值; 运用Cytoscape软件使分析结果可视化。在生成的GNPS分子网络中, 皂苷类成分能够很好地被聚集, 且皂苷类成分的质谱裂解存在一定的规律, 为了进一步发现芦笋中的微量皂苷类成分, 本研究继续采用基于MS/MS关联的分子网络分析芦笋茎皮中的皂苷成分。

芦笋茎皮成分作用靶点和相关疾病靶点的收集 在HIT 2.0数据库检索化合物Name、PubChem CID或CAS号并收集化合物靶点, 对于HIT 2.0数据库未收录的成分, 在PubMed数据库进行手动靶点检索, 整理化合物调节趋势, 将得到的化合物靶点去重复后构建芦笋茎皮作用靶点库。为了更加全面地找到与乳腺癌相关(基因)靶点, 在DisGeNET数据库(<http://www.disgenet.org/>)和GeneCards数据库(<http://www.genecards.org/>)中分别以“Breast cancer”和“Inflammation”作为关键词进行检索, 得到与乳腺癌相关的靶点, 两个数据库筛选得到的靶点去重复后, 构建疾病靶点库。

结果

1 芦笋茎皮中化学成分的定性分析

通过UPLC-Q-TOF-MS/MS高分辨质谱在正、负离子模式下分别采集芦笋茎皮样品的质谱数据, 代表性色谱图见图1。采用SCIEX OS 2.0软件和分子网络进行分析, 共鉴定出107个化合物(表1^[20-32]), 包括皂苷类46个、黄酮类13个、有机酸类16个、氨基酸类10个、

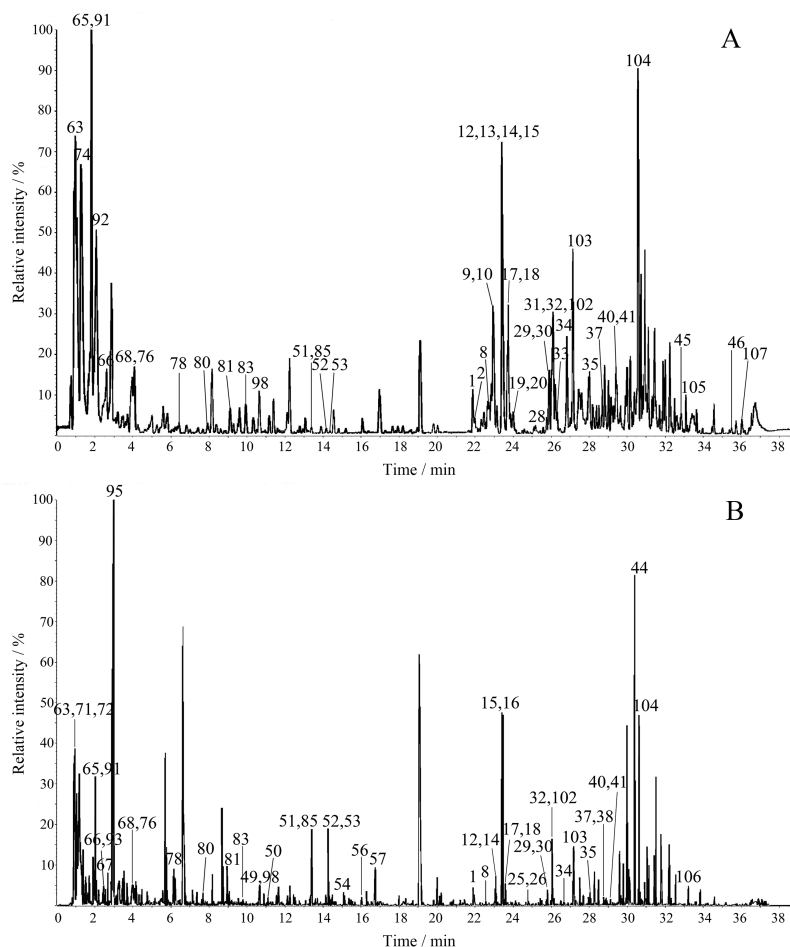


Figure 1 Base peak intensity (BPI) chromatograms of the stem bark of asparagus in positive ion mode by UPLC-Q-TOF MS/MS analysis. A: White asparagus stem bark; B: Green asparagus stem bark. The peak numbers hereby are consistent with those in Table 1

Table 1 Identification of chemical constituents in asparagus stem bark. a: Identified by comparing with the MS data from references^[20-32]; b: Identified by comparing with the MS data from Sciex OS 2.0 library; c: Identified by comparing with the MS data from GNPS; d: Identified by comparing with the standards. W: White asparagus stem bark; G: Green asparagus stem bark.

No.	t_R /min	Identification	Molecular formula	$[M+H]^+ /$ $[M-H]^-$	Mass	Error /ppm	Fragment ion	W	G	Source
1	21.86	β -Sitosterol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucuronoside+2Rha+Glc	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₂	$[M+H]^+$	1 045.521 0	0.2	883.466 6, 737.408 4, 591.352 6	+	+	c
2	21.92	Stigmasterol glucoside+2Rha	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	$[M+H]^+$	867.472 0	-0.3	849.461 8, 721.410 5, 705.417 6, 575.356 5, 559.356 9, 413.304 0	+	-	c
3	22.10	Gracillin+Glc	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₂	$[M+H]^+$	1 047.533 0	0.0	885.483 5, 723.354 9, 577.299 3, 415.251 9, 271.205 3, 253.195 0	+	+	c
4	22.24	β -Sitosterol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucuronoside+Rha+Glc	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₈	$[M+H]^+$	899.463 0	0.0	737.408 6, 593.294 3, 591.350 7	+	+	c
5	22.36	Dongnoside E	C ₅₀ H ₈₂ O ₂₂	$[M+H]^+$	1 035.533 0	-0.9	903.483 1, 873.484 3, 741.443 1, 579.387 9, 417.336 0, 273.221 1	+	+	c
6	22.37	Pamaqueside / agavoside B	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₄	$[M+H]^+$	755.420 0	-1.4	737.405 6, 593.368 7, 431.243 2, 413.311 5, 395.294 0	+	+	c
7	22.43	Pseudoprotoneodioscin+Glc	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₆	$[M+H]^+$	1 193.596 0	-0.5	1 031.538 3, 869.486 1, 723.427 7, 577.373 0, 415.320 1, 253.194 1	+	+	c
8	22.57	Aspidistrin	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₂	$[M+H]^+$	1 033.521 0	-0.6	871.470 1, 739.430 7, 577.373 5, 415.320 9, 397.310 2, 271.205 6	+	+	c
9	22.71	Shatavarin IX	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	$[M+H]^+$	903.495 0	-0.5	741.440 6, 597.325 8, 579.386 9, 417.335 6, 285.257 5, 273.221 6, 255.210 5	+	+	a ^[20]
10	22.82	Protodioscin	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₂	$[M+H]^+$	1 049.553 0	-0.3	887.498 1, 741.438 8, 725.371 0, 433.330 1, 415.322 2	+	+	a ^[21]
11	22.96	(25 <i>S</i>)-26- <i>O</i> - β - <i>D</i> -Glucopyranosyl-5 β -furost-20(22)-ene-3 β ,26-diol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β - <i>D</i> -glucopyranoside	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	$[M+H]^+$	901.478 0	-1.3	739.425 9, 577.372 0, 433.258 1, 415.320 0, 283.242 6, 271.205 9, 253.195 1	+	+	a ^[22]
12	23.25	Compound 7 (isomer)	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₆	$[M+H]^+$	1 193.596 0	-0.7	1 031.545 1, 869.489 4, 723.431 3, 577.371 2, 415.319 9, 253.192 6	+	+	c
13	23.27	Stigmasterol glucoside+Hex+2Rha	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₁	$[M+H]^+$	1 029.526 0	-1.9	867.469 4, 721.413 5, 575.358 1, 413.303 1, 395.291 5	-	+	c
14	23.42	Pseudoprotoneodioscin	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₁	$[M+H]^+$	1 031.542 0	-0.9	869.484 9, 577.371 6, 415.318 5, 271.204 6, 253.194 1	+	+	a ^[23]
15	23.50	Polyphyllin D+Glc/ parisyunnanoside B	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₁	$[M+H]^+$	1 017.525 0	-0.6	855.471 7, 709.414 3, 577.372 6, 415.319 6, 271.205 1, 253.194 6	+	+	c
16	23.53	Asparanin B5	C ₅₀ H ₈₂ O ₂₁	$[M+H]^+$	1 019.542 0	-6.8	857.480 6, 713.365 0, 579.386 9, 417.333 5, 273.221 7, 255.209 3	-	+	c
17	23.71	Yamogenin glucoside+Glc+xyl	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₇	$[M+H]^+$	871.468 0	-0.7	709.415 1, 577.372 6, 415.320 7, 271.206 0, 253.194 8	+	+	c
18	23.73	Gracillin	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₇	$[M+H]^+$	885.484 0	-0.8	723.430 3, 577.374 3, 415.320 8, 271.205 6, 253.194 9	+	+	c
19	23.85	Polyphyllin VI	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	$[M+H]^+$	739.426 0	-0.9	577.373 2, 433.258 7, 415.318 2, 397.311 2, 271.205 6, 253.195 2	+	+	c
20	23.99	Aspachioside D/asparinin B	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₇	$[M+H]^+$	887.498 0	-2.3	741.441 7, 579.387 9, 417.336 7, 273.222 0, 255.211 1	+	+	a ^[23,24]
21	24.01	(25 <i>S</i>)-5 β -Spirostan-3 β -yl- <i>O</i> -[<i>O</i> - α - <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1-4)]- β - <i>D</i> -glucopyranoside	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₂	$[M+H]^+$	725.447 0	0.0	581.330 2, 563.392 4, 417.333 4, 273.220 6, 255.210 1	+	+	a ^[23]
22	24.02	(25 <i>S</i>)-5 β -Spirostan-3 β -ol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β - <i>D</i> -xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β - <i>D</i> -glucopyranoside	C ₄₄ H ₇₂ O ₁₇	$[M+H]^+$	873.484 0	-1.4	711.426 9, 579.389 1, 435.273 6, 417.335 8, 285.258 6, 273.219 9, 255.210 0	+	-	a ^[22]
23	24.06	Dioscin+2Rha	C ₅₆ H ₈₈ O ₂₅	$[M+H]^+$	1 161.565 0	0.3	1 015.503 7, 723.430 4, 577.371 8, 415.319 3, 397.308 4, 253.195 2	+	+	c
24	24.34	Dioscin+Rha	C ₅₀ H ₇₈ O ₂₁	$[M+H]^+$	1 015.543 0	-0.1	869.485 8, 577.373 4, 415.319 7, 379.312 6, 253.195 9	+	+	c
25	24.58	Asparagoside A	C ₃₃ H ₅₄ O ₈	$[M+H]^+$	579.389 0	-1.5	417.335 2, 285.257 0, 273.221 3, 255.211 5	+	+	a ^[22]

								Continued		
No.	t_R /min	Identification	Molecular formula	$[M+H]^+ /$ $[M-H]^-$	Mass	Error /ppm	Fragment ion	W	G	Source
26	24.60	β -Sitosterol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucuronoside+Glc	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₃	$[M+H]^+$	753.442 0	-3.1	591.384 1, 271.206 8, 253.195 2	-	+	c
27	25.10	Stigmasterol glucoside	C ₃₃ H ₅₀ O ₈	$[M+H]^+$	575.358 0	-0.7	557.344 8, 413.301 5, 377.279 9	+	+	c
28	25.44	Compound 9 (isomer)	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	$[M+H]^+$	903.495 0	0.5	741.442 2, 597.321 0, 579.388 7, 417.336 9, 285.260 6, 273.221 2, 255.211 9	+	-	a ^[20]
29	25.88	Stigmasterol glucoside+Rha	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₂	$[M+H]^+$	721.415 0	0.7	575.360 4, 541.348 6, 413.306 0	+	+	c
30	25.89	Compound 14 (isomer)	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₁	$[M+H]^+$	1 031.542 0	0.2	869.489 0, 723.432 5, 577.373 0, 415.321 0, 271.205 3, 253.195 8	+	+	a ^[23]
31	26.09	Compound 22 (isomer)	C ₄₄ H ₇₂ O ₁₇	$[M+H]^+$	873.484 0	-1.4	711.426 9, 579.389 1, 435.273 6, 417.335 8, 285.258 6, 273.219 9, 255.210 0	+	-	a ^[22]
32	26.09	Sarsasapogenin+H ₂ O	C ₂₇ H ₄₆ O ₄	$[M+H]^+$	435.347 0	-0.7	417.337 9, 399.320 9, 303.228 7, 277.218 9	+	+	c
33	26.32	Compound 20 (isomer)	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₇	$[M+H]^+$	887.500 0	-1.6	725.443 2, 579.387 9, 417.333 9, 273.220 9, 255.210 7	+	-	a ^[23,24]
34	26.66	Sarsasapogenin	C ₂₇ H ₄₄ O ₃	$[M+H]^+$	417.336 0	-1.0	399.328 2, 273.221 7, 255.210 9, 199.148 7	+	+	a ^[22]
35	28.04	Sarsasapogenin M	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₄	$[M+H]^+$	757.437 0	-0.8	595.306 0, 577.297 7, 415.247 8, 397.242 0	+	+	a ^[22]
36	28.39	Yamogenin+H ₂ O	C ₂₇ H ₄₄ O ₄	$[M+H]^+$	433.331 0	-2.2	415.268 7, 397.314 2, 279.231 0, 253.191 0, 147.117 4	+	-	c
37	28.82	Filiasparoside D	C ₃₈ H ₆₂ O ₁₂	$[M+H]^+$	711.431 0	0.3	579.385 3, 567.317 4, 417.335 1, 399.325 0, 285.255 4, 273.220 9, 255.210 9	+	+	a ^[25]
38	28.95	Dioscin	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	$[M+H]^+$	869.489 0	0.0	723.430 8, 577.371 1, 415.320 4, 397.309 6, 271.206 4, 253.196 0	+	+	a ^[26]
39	29.22	Asparanin A/ (25 <i>S</i>)-5 β -spirostan-3 β -ol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β - <i>D</i> -glucopyranoside	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₃	$[M+H]^+$	741.442 0	-0.1	579.387 5, 435.273 5, 417.335 8, 285.258 3, 273.221 2, 255.210 1	+	+	a ^[22,27]
40	29.42	Prosapogenin A/ polyphyllin C	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₂	$[M+H]^+$	723.431 0	-0.4	577.370 0, 415.319 4, 271.205 5, 253.195 1, 157.100 5, 85.027 8	+	+	b
41	29.46	Polyphyllin D	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₆	$[M+H]^+$	855.473 0	0.2	711.360 1, 709.408 7, 577.369 0, 415.318 8, 271.205 4, 253.194 4	+	+	c
42	29.71	(25 <i>S</i>)-5 β -Spirostan-3 β -ol-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1,2)-[α - <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1,4)]- β - <i>D</i> -glucopyranoside	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₆	$[M+H]^+$	871.505 0	-1.1	579.391 0, 417.337 2, 293.123 6, 273.221 9, 255.210 6	+	-	a ^[22]
43	29.75	Filiasparoside C	C ₄₄ H ₇₂ O ₁₆	$[M+H]^+$	857.489 0	-0.5	725.448 0, 579.387 7, 417.335 1, 273.220 9, 255.210 7	+	-	a ^[25]
44	30.37	Yamogenin	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	$[M+H]^+$	415.321 0	-0.8	397.313 1, 271.205 3, 253.195 1, 147.116 4	+	+	b
45	32.83	Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	$[M+H]^+$	413.378 0	-2.0	395.366 3, 315.225 4, 271.203 8, 173.130 8	+	-	a ^[22]
46	35.40	25 <i>S</i> -Spirosta-1,4-dien-3-one	C ₂₇ H ₃₈ O ₃	$[M+H]^+$	411.289 0	0.0	393.277 1, 267.174 4, 239.179 3	+	-	a ^[22]
47	9.52	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside-7- <i>O</i> -glucoside	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	$[M+H]^+$	757.219 0	-0.2	595.160 0, 449.106 3, 287.055 0	-	+	a ^[28]
48	9.61	Quercetin diglucoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	$[M+H]^+$	627.155 0	-0.4	609.253 7, 465.103 6, 303.050 1, 257.044 0, 165.014 8, 85.028 6	-	+	a ^[29]
49	10.84	Isorhamnetin-3-rhamnosyl-rutinoside	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₀	$[M+H]^+$	771.234 0	-1.3	609.172 0, 463.120 8, 317.065 0	-	+	a ^[7]
50	11.21	Isorhamnetin-3- <i>O</i> -rutinoside-7- <i>O</i> -glucoside	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₁	$[M+H]^+$	787.229 0	-1.7	641.170 2, 625.176 3, 479.118 2, 317.065 0	-	+	a ^[28]
51	13.43	Quercetin-3- <i>O</i> -glucosylrutinoside	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	$[M+H]^+$	773.213 0	-0.7	611.153 2, 465.102 1, 303.049 3, 129.052 1, 85.027 3	+	+	b
52	14.31	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	$[M+H]^+$	611.161 0	-0.5	465.101 9, 303.050 2, 285.040 6, 257.044 0, 229.049 7	+	+	d, a ^[28]

Continued

No.	t_R /min	Identification	Molecular formula	[M+H] ⁺ / [M-H] ⁻	Mass	Error /ppm	Fragment ion	W	G	Source
53	14.33	Isoquercetin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.103 0	0.3	303.049 6, 285.038 3, 257.047 9, 165.018 2, 153.018 4	+	+	a ^[28]
54	15.09	Astragaln	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	449.108 0	-1.0	287.054 9, 213.056 0, 165.018 5, 153.018 8	-	+	a ^[28]
55	15.62	Narcissoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+H] ⁺	625.176 0	0.1	479.116 1, 317.065 4, 285.033 5, 147.069 0, 129.054 3, 85.028 8	+	+	b
56	16.22	Kaempferol-3-O-rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M+H] ⁺	595.166 0	-0.2	449.107 0, 287.055 0, 269.047 5, 213.054 4, 165.017 1	-	+	a ^[28]
57	16.76	Isorhamnetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M+H] ⁺	317.066 0	0.1	302.048 0, 274.047 9, 165.018 8, 153.018 0	-	+	d, a ^[7]
58	18.07	Chrysoeriol-7-O-β-D-glucoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	[M+H] ⁺	463.123 0	-1.0	301.071 1, 286.047 3, 153.016 2	-	+	b
59	24.97	Diosmetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M+H] ⁺	301.071 0	-0.4	286.046 2, 258.050 8	-	+	a ^[7]
60	0.86	Aspartic acid	C ₄ H ₇ NO ₄	[M-H] ⁻	132.031 0	-0.2	115.008 9, 71.014 9	+	+	b
61	0.88	L-Arginine	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	175.119 0	1.7	158.091 7, 116.070 4, 112.085 9, 70.064 9	+	-	b
62	0.91	L-Glutamic acid	C ₅ H ₉ NO ₄	[M+H] ⁺	148.060 0	0.1	130.049 6, 102.054 2, 85.028 6, 84.043 9, 56.049 3	+	-	b
63	0.99	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	116.070 0	-4.5	70.065 1, 53.039 0	+	+	b
64	1.07	L-Valine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	118.086 0	-1.1	73.085 0, 72.080 9, 59.049 0, 57.057 1, 56.049 5, 55.054 1, 53.038 5	-	+	b
65	1.81	Nicotinic acid	C ₆ H ₅ NO ₂	[M+H] ⁺	124.039 0	-3.8	106.028 4, 80.048 8, 78.033 5, 53.038 2, 52.018 2	+	+	b
66	2.48	Isoleucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	132.102 0	-1.7	87.099 1, 86.096 1, 74.057 5, 70.067 4, 69.069 7, 58.064 7	+	+	a ^[30]
67	2.84	Leucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M-H] ⁻	130.087 0	0.5	113.063 0, 86.062 7, 84.083 5	+	+	a ^[30]
68	3.97	Phenylalanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	166.086 0	-2.7	120.080 2, 104.057 2, 103.053 6, 91.053 9, 77.038 3	+	+	b
69	6.17	L-Tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M-H] ⁻	203.083 0	4.5	186.060 4, 159.095 4, 142.069 0, 130.068 7	+	+	b
70	0.97	Quinic acid	C ₇ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	191.056 0	1.8	173.012 4, 127.044 0, 111.010 1, 85.030 3, 73.030 3	-	+	b
71	0.99	Malic acid	C ₄ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	133.014 0	-0.1	114.036 1, 73.014 7, 70.031 2	+	+	b
72	1.01	Fumaric acid/maleic acid	C ₄ H ₄ O ₄	[M-H] ⁻	115.004 0	-0.7	97.930 6, 71.016 3	-	+	b
73	1.23	Citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.020 0	2.8	173.013 0, 155.001 4, 147.033 1, 111.010 7, 87.010 1	+	+	b
74	1.64	Pipecolic acid	C ₆ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	130.086 0	-3.7	84.080 1, 67.053 7, 62.024 6, 56.048 9	+	+	b
75	2.35	Amber acid	C ₄ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	117.019 0	-0.9	99.011 8, 73.030 3, 55.019 3	+	+	b
76	3.97	Cinnamic acid	C ₉ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	149.060 0	-3.7	131.048 1, 103.053 5, 77.038 5, 65.038 1	+	+	b
77	5.15	Protocatechuic acid	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.019 0	0.7	109.033 8, 91.021 7	+	+	b
78	6.33	Chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	355.102 0	-0.5	181.050 1, 163.038 7, 145.027 9, 135.043 5, 117.032 9, 89.038 0	-	+	b
79	7.25	p-Hydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	138.024 0	-0.5	93.037 2, 65.050 2	+	+	b
80	7.89	p-Coumaroylquinic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M+H] ⁺	339.107 0	0.2	119.048 6, 91.053 0	-	+	a ^[29]
81	8.99	Feruloylquinic acid	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M+H] ⁺	369.118 0	-0.3	178.058 1, 177.054 1, 149.059 1, 146.031 3, 134.035 3, 117.033 2	-	+	a ^[29]
82	9.16	Caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.035 0	3.2	135.048 8, 133.031 6, 89.041 4	-	+	a ^[31]
83	9.80	Ferulic acid	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	195.065 0	0.4	177.054 6, 149.059 2, 145.028 2	+	+	a ^[32]
84	11.8	p-Coumaric acid	C ₉ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	163.044 0	3.5	119.052 3, 91.035 9, 65.040 6	+	+	b
85	13.33	Isoferulic acid	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	195.065 0	-1.0	177.054 6, 149.059 2, 145.028 2	+	+	a ^[32]
86	0.95	D-(+)-Glucose/fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	179.056 0	2.3	119.033 4, 115.043 2, 101.028 1	+	+	b
87	1.00	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	341.109 0	1.9	179.059 3, 119.036 6, 101.026 5	-	+	b
88	1.67	1-Kestose/Neokestose	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	503.162 0	2.1	341.117 6, 179.059 2, 161.046 9, 119.036 5	-	+	b
89	12.85	Nystose	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁	[M-H] ⁻	665.215 0	2.5	503.177 1, 341.112 4, 179.059 2	-	+	b
90	1.69	Adenine	C ₅ H ₅ N ₅	[M+H] ⁺	136.062 0	-1.9	119.035 4, 94.040 2, 92.024 4, 65.013 2	+	+	b

No.	t_R /min	Identification	Molecular formula	[M+H] ⁺ / [M-H] ⁻	Mass	Error /ppm	Fragment ion	W	G	Source
91	1.77	Cytidine	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅	[M+H] ⁺	244.093 0	1.8	112.049 6, 95.023 3, 69.043 9, 67.028 4	+	+	b
92	1.91	Nicotinamide	C ₆ H ₆ N ₂ O	[M+H] ⁺	123.055 0	-2.9	106.030 4, 78.034 1, 53.038 8, 51.022 9	+	+	b
93	2.46	Uridine	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	[M-H] ⁻	243.062 0	4.3	200.060 7, 152.038 6, 111.021 8, 83.014 0, 55.019 9	-	+	b
94	3.00	Adenosine	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M-H] ⁻	266.089 0	3.0	134.049 8, 107.037 9, 92.027 6	-	+	b
95	3.17	Guanosine	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	[M+H] ⁺	284.099 0	0.5	152.056 0, 135.029 3, 110.034 3	-	+	b
96	3.18	2-Hydroxyadenosine	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	[M-H] ⁻	282.084 0	3.8	150.045 8, 133.018 5, 107.038 3	+	+	b
97	9.22	<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	C ₇ H ₆ O ₂	[M-H] ⁻	121.030 0	-0.7	92.027 5, 65.042 3	+	+	b
98	10.85	Vitamin B ₂	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	377.145 0	2.6	243.087 8, 172.086 4, 69.033 0	+	+	b
99	25.41	Coumarin	C ₉ H ₆ O ₂	[M+H] ⁺	147.044 0	-1.4	119.049 9, 91.054 0, 75.022 0, 65.038 5	+	+	b
100	25.42	Dicoumaroyl glycerol	C ₂₁ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	385.128 0	-1.3	367.116 8, 221.080 9, 147.044 1, 119.049 3, 91.054 3	-	+	a ^[29]
101	25.75	Coumaroyl feruloyl glycerol	C ₂₂ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	415.139 0	-0.8	397.126 6, 271.204 0, 221.080 3, 177.054 1, 147.043 5	-	+	a ^[29]
102	26.04	Diferuloyl glycerol	C ₂₃ H ₂₄ O ₉	[M+H] ⁺	445.149 0	-0.9	427.137 0, 251.091 2, 177.054 2, 149.058 9, 145.028 1	-	+	a ^[29]
103	27.11	Sedanolid	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	[M+H] ⁺	195.138 0	0.0	167.091 4, 149.133 1, 135.115 2, 111.078 8, 93.069 6, 91.053 8, 69.070 2	+	+	b
104	30.58	Linolenic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	[M+H] ⁺	279.232 0	0.1	261.221 3, 149.022 9, 123.116 1	+	+	b
105	33.09	Oleamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	[M+H] ⁺	282.279 0	-0.2	265.251 1, 247.240 6, 135.115 9, 121.099 6, 114.091 1, 95.084 7	+	+	b
106	33.17	Muscone	C ₁₆ H ₃₀ O	[M+H] ⁺	239.237 0	0.0	183.083 3, 157.073 5, 143.090 0, 109.101 1, 95.085 6, 81.068 6, 67.054 3	+	+	b
107	36.08	Erucamide	C ₂₂ H ₄₃ NO	[M+H] ⁺	338.342 0	-0.5	321.314 3, 303.030 5, 177.163 0, 153.127 5, 149.131 4	+	+	b

糖类4个和其他类化合物18个。其中通过GNPS网络解析得到首次在芦笋中发现的皂苷类成分23个。

1.1 采用UPLC-Q-TOF-MS/MS表征芦笋茎皮中的皂苷类成分 皂苷是芦笋中的活性成分之一, 芦笋皂苷多为螺甾皂苷。化合物9准分子离子峰为 m/z 903.493 9 [M+H]⁺, 依次失去Hex后可产生碎片离子 m/z 741.440 6 [M+H-Hex]⁺、 m/z 579.386 9 [M+H-2Hex]⁺和 m/z 417.335 6 [M+H-3Hex]⁺, 与文献^[20]报道的质谱数据一致, 因此推断化合物9为shatavarin IX。化合物14准分子离子峰为 m/z 1 031.538 3 [M+H]⁺, 相继失去Hex、两分子Rha和一分子Hex, 产生二级碎片 m/z 869.484 9 [M+H-Hex]⁺、 m/z 577.371 6 [M+H-Hex-2Rha]⁺、 m/z 415.318 5 [M+H-2Hex-2Rha]⁺, 与文献^[23]报道的质谱数据一致, 推断该化合物为Pseudoprotoneodioscin。

通过文献比对和质谱裂解规律的分析, 鉴定出皂苷类化合物23个, 其中包括以菝葜皂苷元为苷元的甾体皂苷13个, 以雅姆皂苷元为苷元的甾体皂苷3个, 以及其他类型皂苷化合物7个, 包括原薯蓣皂苷^[21]、伪原薯蓣皂苷^[23]、豆甾醇^[22]和25S-spirosta-1,4-dien-3-one^[22]等。

芦笋皂苷类化合物具有如下质谱裂解规律(表2): 通常先失去糖基等中性分子, 如Hex (m/z 162.05)、Rha (m/z 146.05)、Xyl (m/z 132.05)生成母核离子, 即相应的皂苷元。在正离子模式下, 以菝葜皂苷元为苷元的芦笋皂苷脱去糖基后会产生 m/z 417.335 8 [M+H]⁺, 进一步失去H₂O分子产生碎片 m/z 399.325 1 [M+H-H₂O]⁺, 随后失去侧链C₈H₁₆O₂得到特征碎片 m/z 255.210 9 [M+H-H₂O-C₈H₁₆O₂]⁺, 或直接失去侧链C₈H₁₆O₂得到特征碎片 m/z 273.221 7 [M+H-C₈H₁₆O₂]⁺。雅姆皂苷元仅比菝葜皂苷元多了C-5, C-6位的不饱和双键, 因此雅姆皂苷元与菝葜皂苷元有相似的裂解规律。正离子模式下, 以雅姆皂苷元为苷元的皂苷在脱去糖基后产生 m/z 415.320 1 [M+H]⁺, 然后依次失去H₂O、C₈H₁₆O₂得到碎片 m/z 397.313 1 [M+H-H₂O]⁺、 m/z 253.195 1 [M+H-H₂O-C₈H₁₆O₂]⁺, 或直接失去C₈H₁₆O₂得到特征碎片 m/z 271.205 3 [M+H-C₈H₁₆O₂]⁺。

1.2 GNPS分子网络对皂苷类成分进行分析 正离子模式下的分子网络中共包括分子式92个, 其中通过文献数据鉴定的皂苷类化合物21个, 以及根据已知化合物和未知化合物在网络中的相关性和准分子离子质荷

Table 2 Characteristic fragments of saponins aglycone and flavonols aglycone in the stem bark of asparagus

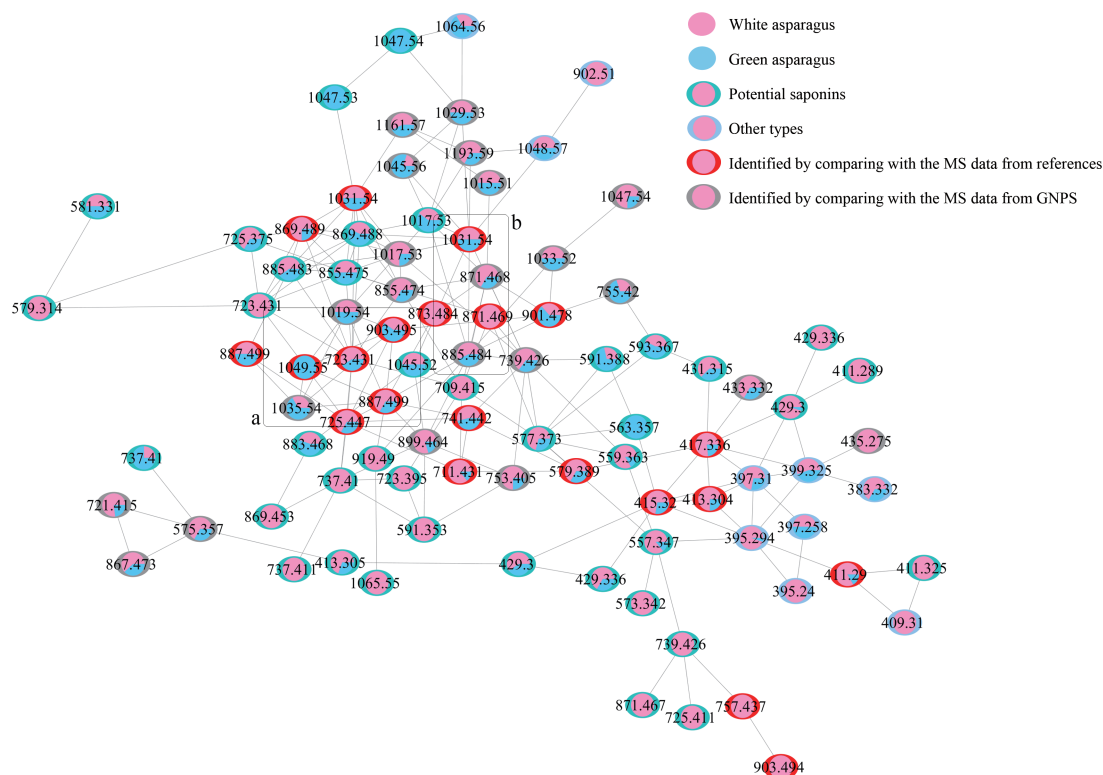
Compounds type	Aglycone	Characteristic ion
Saponin	Sarsasapogenin	417.335 8, 399.325 1, 273.221 7, 255.210 9
	Yamogenin	415.320 1, 397.313 1, 271.205 3, 253.195 1
Flavonol	Kaempferol	287.055 0, 269.043 7, 213.054 2, 165.017 8
	Quercetin	303.049 6, 285.038 3, 257.047 9, 165.018 2
	Isorhamnetin	317.066 6, 302.048 0, 274.047 9, 165.018 8

比差值,进一步共推测皂苷类化合物23个。如化合物5在分子网络中的准分子离子为 m/z 1 035.533 3 (图2a),与已鉴定的化合物9 (m/z 903.493 9) 分子质量相差132.045 0,对应于一分子木糖 ($C_5H_8O_4$),故推测化合物5的分子式为 $C_{50}H_{82}O_{22}$,通过其精确分子质量 m/z 1 035.533 3 (质量误差为 -0.9 ppm),以及两者共有的质谱碎片 m/z 741.440 6、 m/z 579.386 9和 m/z 417.335 6,推断化合物5比shatavarin IX多一分子木糖,进一步通过Scifinder数据库 (<https://scifinder-n.cas.org/>) 检索,推测化合物5可能为Dongnoside E。化合物18在分子网络中的准分子离子为 m/z 885.483 2 (图2b),与化合物14 (m/z 1 031.538 3) 的分子质量差146.059 0,差值对

应于一分子鼠李糖 ($C_6H_{10}O_4$),因此推测化合物18的分子式为 $C_{45}H_{72}O_{17}$,与其精确分子质量 m/z 885.483 2 (质量误差为 -0.8 ppm) 对应。此外,其质谱碎片 m/z 577.374 3、 m/z 415.320 8、 m/z 271.205 6和 m/z 253.194 9与化合物14一致,推测化合物18在化合物14的基础上失去一分子鼠李糖,进一步通过Scifinder数据库检索,推测化合物18为纤细薯蓣皂苷。

通过分子网络结合精确分子质量和质谱裂解规律,推测出以菝葜皂苷元为苷元的甾体皂苷类化合物3个,以雅姆皂苷元为苷元的甾体皂苷类化合物10个,以豆甾醇为皂苷元的皂苷类化合物4个,以 β -谷甾醇为皂苷元的皂苷类化合物3个,其他类型的甾体皂苷类化合物3个。如图2所示,粉色表示白笋茎皮,蓝色表示绿笋茎皮,红色外圈的节点表示已鉴定的21个皂苷类化合物,灰色外圈节点表示由GNPS推测得到的23个皂苷类化合物,靛蓝色外圈节点的39个化合物可能是皂苷类化合物,但未推测出可能的结构式。

1.3 黄酮类 除了皂苷,芦笋中还富含黄酮类成分。在正离子模式下,化合物47的准分子离子峰为 m/z 757.216 8 $[M+H]^+$,失去一分子葡萄糖得到 m/z 595.160 0 $[M+H-Glc]^+$,随后失去一分子芸香糖苷得到 m/z 287.055 0 $[M+H-Glc-rutinoside]^+$,参照文献^[22]报道的质谱数据,鉴定该化合物为山柰酚-3-*O*-芸香糖苷-7-*O*-葡萄糖苷。通过质谱分析和文献比对,两种芦笋中

**Figure 2** Molecular network of saponins from stem bark of asparagus

共鉴定出13个黄酮类化合物,包括以异鼠李素为苷元的黄酮醇苷4个、以槲皮素为苷元的黄酮醇苷4个、以山柰酚为苷元的黄酮醇苷3个,以及黄酮类化合物2个(金圣草黄素-7-*O*- β -D-葡萄糖基和香叶木素^[7])。异鼠李素、槲皮素和山柰酚为苷元的黄酮醇类化合物在裂解时存在一定的规律,一般会在C环上发生RDA裂解,产生特征碎片 m/z 165.02。除了共性的特征碎片,3种黄酮醇苷元还有不同的碎片离子(表2),有助于苷元类型的判断。

1.4 其他类 除了皂苷类和黄酮类,芦笋茎皮中鉴定的化合物还有有机酸类、糖类和氨基酸类等。16个有机酸类化合物包括绿原酸、阿魏酸、原儿茶酸和丁二酸等,4个糖类化合物包括蔗糖、蔗果三糖和耐斯糖等,10个氨基酸类化合物包括L-缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、L-天门冬氨酸和色氨酸等,还包括维生素B2、腺嘌呤等18个其他类化合物。

1.5 绿笋茎皮和白笋茎皮定性化合物的比较 本研究共鉴定皂苷类成分46个,其中白笋中检测到43个,绿笋中检测到36个,两者共有的皂苷33个(图3)。此外,从皂苷类成分分子网络(图2)中也能看出,白笋茎皮的节点(粉色)比绿笋茎皮的节点(蓝色)多20个。对于13个黄酮类成分,白笋中检测到4个,绿笋中检测到13个,两者共有的黄酮类成分4个(图3)。对于糖类、有机酸类和氨基酸类等其他类型的成分,在白笋和绿笋茎皮中均能检测到,说明两者的这些成分种类差异较小。上述比较结果说明,白笋茎皮中富含皂苷类成分,而绿笋茎皮中富含黄酮类成分。

2 成分-调节趋势-靶点网络图分析

基于表1中鉴定的化合物,在HIT 2.0数据库中检索化合物靶点,得到6个化合物的58个靶点;对于HIT 2.0数据库未收录的化合物,在PubMed数据库进行手动靶点检索,得到4个化合物共41个靶点。文献^[6]报道芦笋提取物对小鼠原发性乳腺癌模型具有抑制作用,因此以“Breast cancer”、“Inflammation”为关键词在

DisGeNET及GeneCards数据库进行检索,收集疾病靶点并进行去重复处理,并以“score ≥ 0.3 ”或“Relevance score ≥ 30 ”为标准对疾病靶点进一步筛选,共得到1408个与乳腺癌相关的靶点,将其与上述99个成分靶点进行比对,共得到45个作用靶点。通过Cytoscape软件构建成分-靶点网络图,如图4所示,橙黄色六边形代表化合物,绿色椭圆形代表靶点。由图4可知,皂苷类化合物如菝葜皂苷元可直接抑制NLRP3蛋白的活性,间接上调IL-10的靶点,间接抑制TNF- α 、IL-6和IL-1 α 三种靶点的活性^[33,34];薯蓣皂苷可直接上调AHR、NR1H4蛋白的活性,直接抑制NLRP3蛋白的活性,间接上调GJA1、TNFRSF11B靶点的活性,间接抑制AKT1蛋白的活性,下调CTNNB1、ESR2、HOTAIR、MITF和STAT3五种基因发挥药效^[35-41];黄酮类化合物如异鼠李素可直接抑制PPARG、PTGS2蛋白的活性,间接抑制NOS2、XDH和MAP2K1三种蛋白的活性^[42-44];芦丁

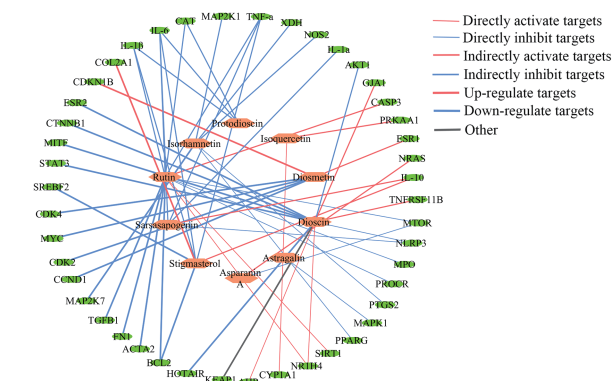


Figure 4 Component-target network. MTOR: Serine/threonine-protein kinase mTOR, NLRP3: NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3; MPO: Myeloperoxidase; PROCRC: Endothelial protein C receptor; PTGS2: Prostaglandin G/H synthase 2; MAPK1: Mitogen-activated protein kinase 1; PPARG: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma; SIRT1: NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-1; NR1H4: Bile acid receptor; CYP1A1: Cytochrome P450 1A1; AHR: Aryl hydrocarbon receptor

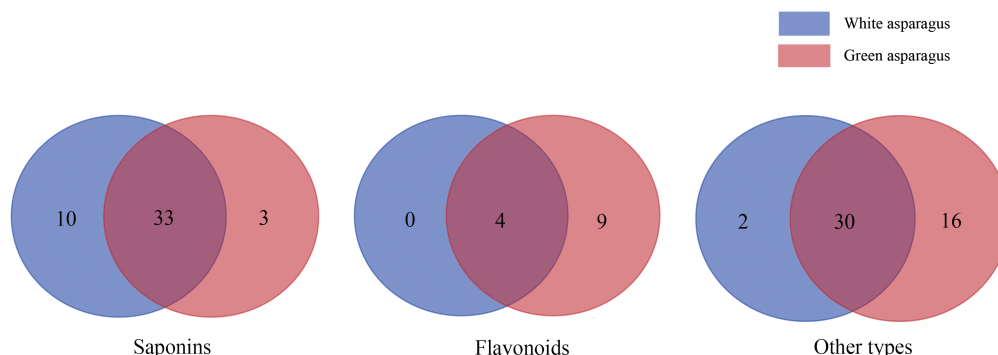


Figure 3 Venn diagram of chemical constituents in the stem bark of asparagus. The number represents the number of compounds

可直接上调 SIRT1、NR1H4 蛋白的活性, 直接抑制 PROCP、MPO、MTOR 蛋白的活性, 间接上调 CASP3 蛋白的活性, 间接抑制 Cat、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 四种靶点的活性, 下调 TGFB1、ACTA2、FN1、BCL2 基因发挥药效^[45-48]。

讨论

本研究采用了高分辨液质联用和分子网络技术对白笋、绿笋茎皮中的化学成分进行分析, 共鉴定出或推断 107 个化合物, 包括皂苷类 46 个、黄酮类 13 个、有机酸类 16 个、氨基酸类 10 个、糖类 4 个和其他类成分 18 个。已有的芦笋化学成分研究主要采用植物化学方法, 在基于高分辨质谱的化学成分快速鉴定方面, Jiménez-Sánchez 等^[29]从西班牙的芦笋中鉴定 33 个成分, 主要是酚酸类和黄酮类。本研究基于甾体皂苷的质谱和特征和 GNPS 分子网络, 除了鉴定到文献中已报道的 23 个甾体类成分, 而且推测出微量甾体皂苷类成分 23 个。GNPS 分子网络已收录了 22 644 个化合物和 235 850 个谱图, 具有鉴定已知化合物的功能, 除此之外, 分子网络技术对于不同平台的质谱仪器产生的质谱数据具有兼容性, 可直观地观测到样品中的化合物分子离子, 利用二级质谱碎片的相似性, 可将同类别的化合物整合为一个可视化的网络图谱^[16], 能够加速促进未知化合物的指认。

此外, 本研究利用 HIT 2.0 中草药成分靶点数据库结合文献^[33-48]报道确定了芦笋茎皮中的 10 个皂苷和黄酮类成分对乳腺癌的 45 个作用靶点。HIT 2.0 数据库不仅能给出化合物的作用靶点, 而且还能给出化合物对靶点的调节趋势, 包括直接上调蛋白、直接抑制蛋白、间接上调蛋白、间接抑制蛋白、上调或下调基因等, 与 Swiss Target Prediction、BATMAN-TCM 等网络药理数据库相比, HIT 2.0 数据库中的靶点全部经过实验验证, 为芦笋茎皮活性成分真实靶点的获取提供了强有力的支持。

芦笋是一种兼药用和食用于一体的蔬菜, 除食用部位外, 芦笋皮和老茎等占芦笋原料的 30% 左右, 已有研究虽然考察了废弃的茎皮部位中总皂苷和总黄酮的提取工艺, 但所含的具体化学成分和结构并不完全清楚^[9,49]。本研究基于高分辨质谱解析技术表明芦笋茎皮含有丰富的皂苷类成分和黄酮类成分, 具有较大的资源利用价值, 白笋茎皮和绿笋茎皮在黄酮类和皂苷类成分上的化学差异也为芦笋茎皮的精准开发利用奠定了理论基础。

作者贡献: 卫瑞、杨琳娇负责实验研究工作及数据分析

处理, 并撰写稿件; 秦雪梅参与芦笋茎皮样品品种的鉴定; 李震宇对整个研究工作设计、监督和指示, 以及对稿件的修改。

利益冲突: 本文的研究无任何利益冲突。

References

- [1] Xie B. Isolation, Identification and Biological Function Study of Oligosaccharides in *Asparagus officinalis* (芦笋低聚糖的分离鉴定及其功能研究) [D]. Tianjin: Tianjin University, 2010.
- [2] Guo QB, Wang NF, Liu HH, et al. The bioactive compounds and biological functions of *Asparagus officinalis* L. -A review [J]. J Funct Foods, 2019, 65: 103727.
- [3] Ji CF. Study on Anti-Tumor Effect and the Mechanisms of *Asparagus* Polysaccharide and *Asparagus* Saponins (芦笋多糖、芦笋皂苷抗肿瘤作用及机制研究) [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2010.
- [4] Wang JQ, Liu YL, Zhao JJ, et al. Saponins extracted from by-product of *Asparagus officinalis* L. suppress tumour cell migration and invasion through targeting Rho GTPase signalling pathway [J]. J Sci Food Agric, 2013, 93: 1492-1498.
- [5] Romani A, Casciano F, Stevanin C, et al. Anticancer activity of aqueous extracts from *Asparagus officinalis* L. byproduct on breast cancer cells [J]. Molecules, 2021, 26: 6369.
- [6] Wang N, Chu F, Li L. The experimental studies of purple asparagus inhibit the mouse with breast cancer tumours growth [J]. Sci Mosaic (科技广场), 2010, 10: 68-70.
- [7] Jiang D, Tao FY, Li YQ, et al. The development of flavonoids in *Asparagus officinalis* L. [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2014, 35: 357-362.
- [8] Sun ZX, Huang XF, Kong LY. A new steroidal saponin from the dried stems of *Asparagus officinalis* L. [J]. Fitoterapia, 2009, 81: 210-213.
- [9] Zhao JH. Study on the Extraction, Isolation and Activity of Discarded *Asparagus officinalis* Linn. (芦笋边角料提取分离及活性研究) [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2009.
- [10] Meng XM, Zheng XD, Pan SX, et al. Extration on the flavonoid from different kinds of asparagus waste by ultrasonic-microwave synergistic extraction [J]. Food Sci Technol (食品科技), 2019, 44: 208-212.
- [11] Lou GG, Xia J, Yang J, et al. Differences in the chemical composition of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo and *Dendrobium crepidatum* Lindl based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and metabolomics [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2021, 56: 3331-3344.
- [12] Zheng W, Zhou M, Wang SY, et al. Comparative analysis of chemical constituents in hawthorn leaves from different sources [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2021, 56: 3526-3539.
- [13] Qu ZY, Luo LT, Zhang WJ, et al. Potential pharmacodynamic substances and mechanism of *Schisandra chinensis* rattan stems in liver protection based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network

- pharmacology [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2022, 53: 2407-2416.
- [14] Gao SH, Su ZZ, Yang LJ, et al. Chemical components from stems of *Solanum nigrum* by LC-MS and NMR [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2021, 52: 1263-1273.
- [15] Zhang YT, Wang CG, Deng XQ, et al. Rapid identification of chemical constituents in *Erigeron breviscapus* injection based on UHPLC-LTQ-orbitrap MSn and molecular network technology [J]. *J Chin Mass Spectr Soc (质谱学报)*, 2022, 43: 287-299.
- [16] Cheng TF, Jin HZ, Liu CX, et al. LC-MS/MS-based molecular networking producing enlighten study of Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2018, 49: 265-273.
- [17] Huang FF, Wang R, Chen Y, et al. Rapid identification of alkaloids in the rhizomes of *Corydalis decumbens* by molecular networking base on HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *J Chin Mass Spectr Soc (质谱学报)*, 2021, 42: 228-240.
- [18] Zhao P, Li ZY, Qin SY, et al. Three unusual sesquiterpenes with distinctive ring skeletons from *Daphne penicillata* uncovered by molecular networking strategies [J]. *J Org Chem*, 2021, 86: 15298-15306.
- [19] Yan D, Zheng G, Wang C, et al. HIT 2.0: an enhanced platform for herbal ingredients' targets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50: D1238-D1243.
- [20] Onlom C, Nuengchamnon N, Phrompittayarat W, et al. Quantification of saponins in *Asparagus racemosus* by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *Nat Prod Commun*, 2017, 12: 7-10.
- [21] Wang MF, Tadmor Y, Wu QL, et al. Quantification of protodioscin and rutin in asparagus shoots by LC/MS and HPLC methods [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51: 6132-6136.
- [22] Huang XF, Lin YY, Kong LY. Steroids from the roots of *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity [J]. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50: 717-722.
- [23] Shen Y, Xu CL, Xuan WD, et al. A new furostanol saponin from *Asparagus cochinchinensis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34: 1585-1591.
- [24] Patricia YH, Aisyah HJ, Reg L, et al. Asparinins, asparosides, curillins, curillosides and shavatarins: structural clarification with the isolation of shatavarin V, a new steroidal saponin from the root of *Asparagus racemosus* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2006, 47: 8683-8687.
- [25] Zhou LB, Chen T, Bastow KF, et al. Filiasparosides A-D, cytotoxic steroidal saponins from the roots of *Asparagus filicinus* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70: 1263-1267.
- [26] Hyun JL, Jin SP, Yong PY, et al. Dioscin and methylprotodioscin isolated from the root of *Asparagus cochinchinensis* suppressed the gene expression and production of airway MUC5AC mucin induced by phorbol ester and growth factor [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22: 568-572.
- [27] Wang JQ, Zhao D, Ran X, et al. Research advancement on anti-tumor activity of saponins from *Asparagus officinalis* L. [J]. *Prog Mod Biomed (现代生物医学进展)*, 2011, 11: 393-396.
- [28] Yu ST, Qin XM, Li ZY. Quality assessment of Shuxuening injection based on widely targeted metabolomics approach [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 189: 113398.
- [29] Jiménez-Sánchez C, Pedregosa F, Borrás-Linares I, et al. Identification of bioactive compounds of *Asparagus officinalis* L.: permutation test allows differentiation among "Triguero" and hybrid green varieties [J]. *Molecules*, 2021, 26: 1640.
- [30] Ren B, Lu Y, Wang YW, et al. Determination of 17 amino acids in silk floss using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *China Fiber Insp (中国纤检)*, 2021, 11: 86-89.
- [31] Hongxia Z, John B, Pei JJ, et al. Identification of six phytochemical compounds from *Asparagus officinalis* L. root cultivars from New Zealand and China using UAE-SPE-UPLC-MS/MS: effects of extracts on H₂O₂-induced oxidative stress [J]. *Nutrients*, 2019, 11: 107.
- [32] Zhao S, Zhong LL, Zhou H, et al. Identification and analysis of phenolic acids in rice using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Agric Sin (中国农业科学)*, 2020, 53: 612-631.
- [33] Kong L, Liu Y, Zhang YM, et al. Sarsasapogenin ameliorates diabetes-associated memory impairment and neuroinflammation through down-regulation of PAR-1 receptor [J]. *Phyther Res*, 2021, 35: 3167-3180.
- [34] Lim SM, Jeong JJ, Kang GD, et al. Timosaponin AIII and its metabolite sarsasapogenin ameliorate colitis in mice by inhibiting NF-kappaB and MAPK activation and restoring Th17/Treg cell balance [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 25: 493-503.
- [35] Si L, Xu L, Yin L, et al. Potent effects of dioscin against pancreatic cancer *via* miR-149-3P-mediated inhibition of the Akt1 signalling pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174: 553-568.
- [36] Kou Y, Ji L, Wang H, et al. Connexin 43 upregulation by dioscin inhibits melanoma progression *via* suppressing malignancy and inducing M1 polarization [J]. *Int J Cancer*, 2017, 141: 1690-1703.
- [37] Ma T, Wang RP, Zou X. Dioscin inhibits gastric tumor growth through regulating the expression level of lncRNA HOTAIR [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16: 383.
- [38] Zhang C, Peng J, Wu S, et al. Dioscin promotes osteoblastic proliferation and differentiation *via* Lrp5 and ER pathway in mouse and human osteoblast-like cell lines [J]. *J Biomed Sci*, 2014, 21: 30.
- [39] Tao X, Xu L, Yin L, et al. Dioscin induces prostate cancer cell apoptosis through activation of estrogen receptor-beta [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2989.
- [40] Nishina A, Ebina K, Ukiya M, et al. Dioscin derived from *Solanum melongena* L. "Usukawamarunasu" attenuates alpha-MSH-induced melanogenesis in B16 murine melanoma cells *via* downregulation of phospho-CREB and MITF [J]. *J Food Sci*,

- 2015, 80: H2354-H2359.
- [41] Xu LN, Yin LH, Jin Y, et al. Effect and possible mechanisms of dioscin on ameliorating metabolic glycolipid metabolic disorder in type-2-diabetes [J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153139.
- [42] Zhang Y, Gu M, Cai W, et al. Dietary component isorhamnetin is a PPARgamma antagonist and ameliorates metabolic disorders induced by diet or leptin deficiency [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19288.
- [43] Seo K, Yang JH, Kim SC, et al. The antioxidant effects of isorhamnetin contribute to inhibit COX-2 expression in response to inflammation: a potential role of HO-1 [J]. *Inflammation*, 2014, 37: 712-722.
- [44] Kim JE, Lee DE, Lee KW, et al. Isorhamnetin suppresses skin cancer through direct inhibition of MEK1 and PI3-K [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2011, 4: 582-591.
- [45] Na JY, Song K, Kim S, et al. Rutin protects rat articular chondrocytes against oxidative stress induced by hydrogen peroxide through SIRT1 activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473: 1301-1308.
- [46] Park HH, Lee S, Son HY, et al. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31: 1303-1311.
- [47] Han Y, Lu JS, Xu Y, et al. Rutin ameliorates renal fibrosis and proteinuria in 5/6-nephrectomized rats by anti-oxidation and inhibiting activation of TGFbeta1-smad signaling [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 4725-4734.
- [48] El-Hawary SS, Ali ZY, Younis IY. Hepatoprotective potential of standardized Ficus species in intrahepatic cholestasis rat model: involvement of nuclear factor-kappaB, and farnesoid X receptor signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 231: 262-274.
- [49] Song J. Purification and Properties of Flavonoids from the Wastes of *Asparagus officinalis* L. (芦笋废弃物中黄酮化合物的纯化及其性质研究) [D]. Zhenjiang: Jiangnan University, 2012.