

基于UHPLC-Q Exactive MS的分子网络技术快速分析 龙葵叶物质成分

董现龙, 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: 龙葵 (*Solanum nigrum* L.) 全草均可入药。本研究采用UHPLC-Q Exactive高分辨质谱结合GNPS分子网络(global natural products social molecular networking), 对龙葵叶的化学成分进行快速表征。通过与文献报道数据比较, 并结合质谱裂解特征规律分析, 以及GNPS分子网络中已知和未知节点的关联分析, 从龙葵叶中共鉴定157个化合物, 包括甾体生物碱30个, 甾体皂苷61个, 黄酮类35个, 氨基酸、有机酸等其他类型化合物31个。与龙葵果和龙葵茎相比, 龙葵叶中甾体皂苷、甾体生物碱、黄酮类成分的种类均较为丰富, 本研究结果为龙葵药材资源的精准利用奠定了基础。

关键词: UHPLC-Q Exactive MS; 龙葵; GNPS分子网络; 甾体生物碱; 甾体皂苷; 黄酮

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)04-1003-11

Rapid identification of the chemical compounds in the leaves of *Solanum nigrum* L. based on UHPLC-Q Exactive MS and molecular network technology

DONG Xian-long, 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: The whole herb of *Solanum nigrum* L. can be used as the herbal drug. In this study, UHPLC-Q Exactive high resolution mass combined with GNPS molecular network was used for the rapid characterization of the components in the leaves of *S. nigrum* L. A total of 157 compounds were identified, including 30 steroid alkaloids, 61 steroid saponins, 35 flavonoids, and 31 other compounds (amino acids and organic acids), by comparison with the data reported in the literature, and mass fragmentation characteristics analysis, as well as the correlation of known and unknown nodes in the GNPS molecular network. Compared with the fruits and stems, the leaves of *S. nigrum* L. was rich in a variety of steroidal saponins, steroidal alkaloids, and flavonoids, and the results lay the foundation for the precise resources utilization of *S. nigrum* L.

Key words: UHPLC-Q Exactive MS; *Solanum nigrum* L.; GNPS molecular network; steroid alkaloids; steroid saponins; flavonoids

龙葵为茄科茄属植物 (*Solanum nigrum* L.), 具有
清解热毒、消肿散结、消炎利尿的功效。文献^[1]研究表

明龙葵的化学成分主要为甾体皂苷类生物碱、龙葵多
糖、矿物质、维生素、色素、氨基酸等。龙葵全草均可入
药, 现有的化学研究^[2]大多针对全草, 结果表明龙葵中
含有多种甾体生物碱、甾体皂苷和黄酮类成分等。已
有文献表明, 对于全草类中药材, 不同的部位的化学成
分和生物活性存在差异, 如薄荷^[3]和蒲公英^[4]。文献^[5,6]

收稿日期: 2022-11-01; 修回日期: 2023-03-14.

基金项目: 山西省现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (2021-11).

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

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-1162

报道龙葵叶具有显著的抗氧化作用,对谷氨酸诱导星形胶质细胞的氧化损伤具有保护作用;此外,龙葵叶对束缚应激导致的肝脏损伤具有保护作用。然而,目前尚未开展单独针对龙葵叶化学成分的研究。

UHPLC-Q Exactive 高分辨质谱技术具有高分辨率、高灵敏度、用时短、扫描范围广等特点,现已广泛运用到药用植物的化学成分快速鉴定研究中。GNPS 分子网络^[7,8]是近年发展起来的天然产物可视化鉴定技术,结构类似的天然产物具有相似的特征碎片离子,根据相似度可以生成可视化的分子网络图,每一个节点表示一个化合物。借助分子网络技术,可以根据已知的化合物发现潜在的未知同类型成分。目前,液质联用结合分子网络技术已经成功的运用到多种药用植物成分的快速分析和鉴定中,如炮附片^[7]、芦笋^[8]和黄山药^[9]等。

本课题组前期已对龙葵果^[10]和龙葵茎^[11]分别进行了化学成分解析,本研究基于UHPLC-Q Exactive 高分辨质谱技术和GNPS分子网络技术对龙葵叶的化学成分进行快速解析。

材料与方法

仪器 Thermo Fisher U3000 超高效液相色谱仪,配置在线脱气机、四元梯度泵、柱温箱、自动进样器, Thermo Scientific™ Q Exactive 组合型四极杆 Orbitrap 质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);十万分之一天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);KQ5200E 超声波清洗器和 XK-80A 快速混匀器(江苏新康医疗器械有限公司)。

试剂与样品 龙葵 2019年8月采集于山西省五台县蒋坊乡,由山西药科职业学院刘林风教授鉴定为茄科茄属植物龙葵的全草。甲醇(分析纯,天津市大茂化学试剂厂),甲酸、乙腈(色谱纯,美国 Thermo 公司),超纯水由 Milli-Q Integral Water Purification System(美国 Millipore 公司)制备。澳洲茄胺对照品(批号 19121-58-5,纯度 94.5%)、澳洲茄碱对照品(批号 20318-30-3,纯度 ≥ 95%)均购买于上海安奈德化学技术中心。

色谱条件 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B);梯度洗脱(0~15 min, 5%~20% B; 15~20 min, 20%~35% B; 20~30 min, 35%~55% B)。柱温为 35 °C,流速为 0.25 mL·min⁻¹,进样量为 1 μL。

质谱条件 Full MS/DD MS 2 (TOPN): 采用电喷雾离子源(HESI);扫描方式采用正负离子同时扫描;毛细管温度为 320 °C;鞘气体积流量为 35 psi (1 psi ≈

6.9 kPa),辅助气体积流量为 10 psi;正离子模式下喷雾电压为 3.5 kV,负离子模式喷雾电压下为 2.5 kV,透镜电压为 55 kPa;探头加热器温度为 300 °C;最大喷雾电流为 100 V;碰撞能量梯度为 20、40、60 eV;扫描质量范围为 m/z 80~1 200 Da,质量分辨率 70 000。

供试品溶液的制备 取龙葵叶粉碎,精密称取粉末 0.50 g,置于 10 mL 玻璃管中,加 50% 甲醇溶液 6.0 mL,涡旋 1 min,超声提取 25 min,放冷至室温,3 500 r·min⁻¹ 离心 25 min,取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,用于UHPLC-Q Exactive MS 分析。

GNPS 分子网络建立 利用 Reifycs-Abf Converter 软件将原始质谱数据转换为 abf 格式的文件,然后利用 MS-DIAL 处理 abf 的数据,将 abf 格式的数据输出为 GNPS 网站所需要的 mgf 格式,处理好的数据利用 WinSCP 软件将待分析数据连接到 GNPS 平台(<http://gnps.ucsd.edu>),分别建立 GNPS 网络。数据分析在 Cytoscape 3.7.2 软件中进行。

化合物结构解析 采用 Thermo Xcalibur 3.2 软件对采集到的原始质谱数据进行分析处理。通过分析目标化合物的一级和二级质谱数据,结合文献报道的质谱数据和标准品对照,以及 HMDB、Pubchem 和 SciFinder 等数据库进行化合物结构鉴定。

结果

1 龙葵叶化学成分的定性分析

正、负模式下的龙葵叶的总离子流图分别如图 1 所示,根据文献^[8-35]报道的数据以及 GNPS 分子网络共鉴定出 157 个化合物(表 1)。

1.1 采用 UHPLC-Q Exactive MS 表征龙葵中的皂苷类和生物碱类成分 甾体皂苷是龙葵中的重要活性成分。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 41 个,其中包括以薯蓣皂苷元(diosgenin,图 2A)为苷元的甾体皂苷 11 个,以替告皂苷元(tigogenin,图 2B)为苷元的甾体皂苷 14 个,以 furosta-5β,3β,20α,26-triol(图 2C)为苷元的甾体皂苷 2 个,以去 9(11)-去氢海柯皂苷元[9(11)-dehydrohecogenin]为苷元的甾体皂苷 4 个,以卡莫皂苷元(kammogenin)为苷元的甾体皂苷 2 个,以曼诺皂苷元(manogenin)为苷元的甾体皂苷 1 个,以丝蓝皂苷元(yuccagenin)为苷元的甾体皂苷 3 个,以及其他类型皂苷 4 个,包括 solanigraside C^[2]、dihydrosolanigraside C^[12]、shatavarin I 和 solanigraside Y5^[13]。

龙葵中皂苷类化合物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)

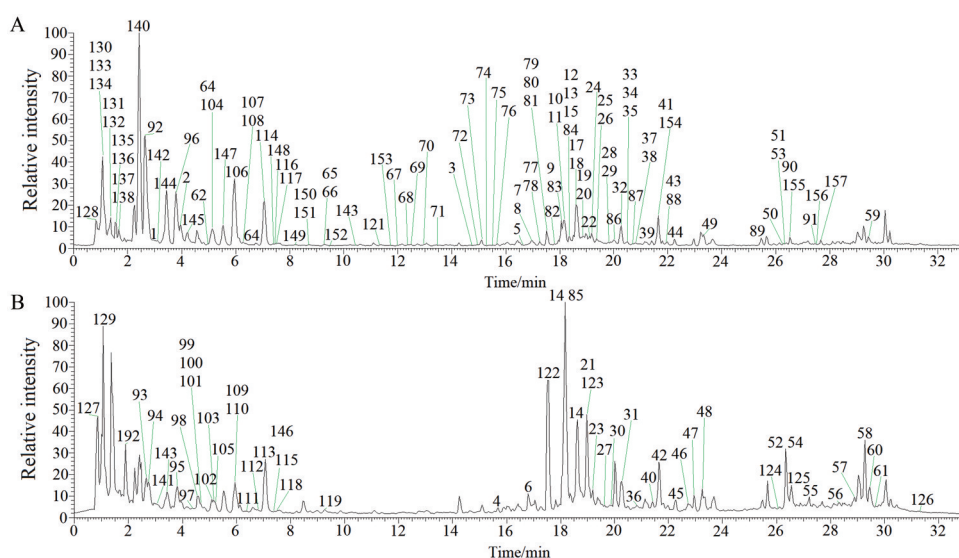


Figure 1 UHPLC-Q Exactive MS total ion flow diagram from the leaves of *Solanum nigrum*. A: Positive ion mode; B: Negative ion mode. The peak numbers hereby are consistent with those in Table 1

Table 1 Mass spectrometric data for identification of chemical constituents in the leaves of *Solanum nigrum*. a: Identified according to the data reported in the literature^[8-35]; b: Compounds speculated by GNPS; c: Unknown alkaloids; d: Identification by using standard products; e: Unknown flavonoids; Hex: Hexosyl; Rha: Rhamnosyl; Xyl: Xylosyl; AA: Acetic acid; GNPS: Global natural products social molecular networking

No.	t_R /min	Molecular formula	Identification	Mass	Error ($\times 10^{-6}$)	Ion	Fragment ion
Saponins							
1 ^a	2.96	C ₂₇ H ₄₄ O ₄	Gitogenin ^[28]	433.332 3	2.54	[M+H] ⁺	415.320 8, 397.309 8, 271.205 3
2 ^a	3.94	C ₂₇ H ₄₂ O ₅	Manogenin ^[20]	447.306 9	-8.05	[M+H] ⁺	429.119 1, 273.220 9, 255.210 2, 161.132 2
3 ^a	14.72	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₆	Solanigraside C ^[31]	1 133.498 0	-0.53	[M+Na] ⁺	971.444 8, 809.3927, 647.342 5, 467.137 5
4 ^a	15.70	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₈	Solanigraside Y5 ^[19]	1 271.591 8	2.16	[M+FA-H] ⁻	1 225.585 7, 1 063.538 0, 757.365 7, 431.310 6
5 ^a	16.65	C ₂₇ H ₄₆ O ₄	25 <i>S</i> -Furosta-5 β ,3 β ,20 α ,26-triol ^[23]	435.270 4	3.79	[M+H] ⁺	417.266 5, 291.215 5, 273.221 5
6 ^b	16.89	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₈	Timosaponin H1 ^[33]	1 257.574 8	2.32	[M+FA-H] ⁻	1 211.570 9, 1 079.526 6, 1 049.519 7, 755.422 9, 593.369 9
7 ^a	16.91	C ₃₃ H ₅₂ O ₈	Trillin ^[17]	577.374 9	2.42	[M+H] ⁺	415.320 5, 271.205 1, 253.194 8
8 ^a	16.93	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₆	Solanigraside Y3 ^[13]	1 131.482 2	-0.71	[M+Na] ⁺	969.429 0, 807.377 8, 645.324 5
9 ^a	18.10	C ₃₃ H ₅₄ O ₈	Tigogenin-hex ^[10]	579.391 4	3.97	[M+H] ⁺	579.391 4, 417.335 2, 399.335 2, 273.220 8
10 ^a	18.14	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₈	Trigoneoside XIIIa ^[27]	1 227.589 4	-8.96	[M+H] ⁺	904.140 3, 741.440 7, 579.388 1, 417.335 8
11 ^a	18.17	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₃	Timosaponin AIII ^[28]	741.444 5	3.51	[M+H] ⁺	579.388 2, 417.334 4, 273.220 8
12 ^a	18.23	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₇	Yuccaloiside B ^[28]	1 193.604 7	8.21	[M-H ₂ O+H] ⁺	1 031.536 3, 723.429 8, 577.372 4, 415.320 3
13 ^a	18.23	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	Shatavarin IX ^[8]	903.494 1	-0.66	[M+H] ⁺	741.439 1, 579.621 9, 417.335 6
14 ^a	18.23	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₇	Solanigraside Y6 ^[13]	1 255.595 2	2.69	[M+FA-H] ⁻	1 209.590 9, 1 047.538 0, 901.483 5, 755.423 2, 593.366 6, 431.316 0, 413.308 4
15 ^a	18.25	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	Diosgenin 3- <i>O</i> -cellobioside ^[13]	739.427 4	1.49	[M+H] ⁺	577.372 6, 415.320 1, 271.205 4, 253.194 7
16 ^b	18.41	C ₅₁ H ₈₆ O ₂₄	Tomatoside A ^[30]	1 117.520 4	5.61	[M+FA-H] ⁻	1 081.543 1, 919.492 0, 757.437 3, 595.384 9, 433.337 0
17 ^a	18.59	C ₅₀ H ₈₂ O ₂₂	Degalactotigonin ^[28]	1 035.544 9	7.63	[M+H] ⁺	873.481 0, 741.441 0, 579.388 5, 417.335 8
18 ^a	18.70	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₇	Diurnoside ^[25]	1 197.589 1	-0.58	[M+H] ⁺	1035.534 3, 741.440 4, 579.388 2, 417.335 5
19 ^a	18.82	C ₃₃ H ₅₂ O ₁₀	Chonglouoside <i>SL</i> -10 ^[12]	609.364 1	1.31	[M+H] ⁺	609.364 1, 447.310 1, 429.299 6, 411, 288 5
20 ^a	18.89	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₂	Zingiberensis saponin ^[35]	1 047.532 8	-4.01	[M+H] ⁺	885.483 9, 723.433 2, 577.376 0, 415.320 5
21 ^b	18.91	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₃	25(27)-ene-Gurilioside H ^[33]	1 109.501 8	8.65	[M+FA-H] ⁻	1 063.532 5, 917.474 9, 755.424 0, 575.373 3
22 ^a	19.14	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₂	Asparasaponin I ^[19]	1 031.544 2	2.04	[M-H ₂ O+H] ⁺	869.487 4, 723.428 1, 577.372 7, 415.320 2
23 ^b	19.15	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	Timosaponin B II ^[14]	965.495 9	6.91	[M+FA-H] ⁻	919.490 9, 757.437 8, 595.385 5, 433.333 0, 330.488 9
24 ^a	19.21	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₇	Gracillin ^[18]	885.481 9	-2.60	[M+H] ⁺	723.429 6, 579.315 1, 415.320 1, 271.205 2
25 ^a	19.36	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₂	Zingiberensis saponin ^[19]	1 049.549 6	-2.95	[M+H] ⁺	869.488 0, 723.429 0, 577.372 4, 415.320 2

Continued

No.	t_R /min	Molecular formula	Identification	Mass	Error ($\times 10^{-6}$)	Ion	Fragment ion
26 ^a	19.39	C ₃₃ H ₅₀ O ₁₀	Kammogenin-glu ^[20]	607.346 2	-2.31	[M+H] ⁺	445.296 1, 427.273 0, 409.273 0
27 ^b	19.75	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₂	Compound 36 isomer ^[35]	1 093.536 6	5.69	[M+FA-H] ⁻	1 047.538 2, 901.477 5, 575.372 6, 431.319 3
28 ^a	19.81	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₄	Pennogenin-rha ^[12]	755.421 8	0.79	[M+H] ⁺	579.389 3, 435.273 5, 399.324 5, 285.256 5
29 ^a	19.84	C ₃₃ H ₅₂ O ₉	D-Glucuronic acid, (3 β ,5 β ,25R)- spirostan-3-yl ester ^[20]	593.361 7	-9.10	[M+H] ⁺	417.317 6, 399.325 3, 273.220 7
30 ^b	19.93	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₈	Aspacochoiside A ^[30]	949.485 7	6.18	[M+FA-H] ⁻	903.495 7, 757.444 2, 595.393 7, 433.330 5, 352.469 5
31 ^a	20.26	C ₅₀ H ₈₂ O ₂₂	Melongoside F ^[19]	1 033.522 1	-0.29	[M-H] ⁻	901.480 7, 739.4258, 577.374 6, 415.320 3
32 ^a	20.34	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₇	Shatavarin VI ^[9]	887.491 1	-9.80	[M+H] ⁺	725.443 7, 579.389 8, 417.336 2, 399.325 9
33 ^a	20.50	C ₃₃ H ₅₀ O ₉	Spirost-9(11)-en-12-one ^[20]	591.354 6	3.21	[M+H] ⁺	429.300 1, 273.220 8, 255.210 3
34 ^a	20.51	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₄	β -Sitosterol-3-O- β -D- glucuronoside+glc ^[8]	753.403 2	-3.05	[M+H] ⁺	591.351 1, 273.221 0, 255.210 2
35 ^a	20.52	C ₅₇ H ₉₆ O ₂₈	Trigoneoside XIIIb ^[27]	1 227.606 1	3.75	[M+H] ⁺	1065.540 9, 903.501 7, 741.443 1
36 ^b	20.82	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₂	Protodioscin ^[35]	1 093.536 6	1.26	[M+FA-H] ⁻	1 047.536 5, 915.458 5, 885.449 5, 591.354 4, 429.303 5
37 ^a	20.84	C ₂₇ H ₄₄ O ₃	Tigogenin ^[15]	417.335 7	-1.44	[M+H] ⁺	399.326 4, 273.220 8, 255.210 4, 161, 132 2
38 ^a	20.88	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₃	Deltoside ^[19]	1 063.528 1	-3.76	[M+H] ⁺	901.471 9, 739.429 5, 577.372 5, 415.320 0
39 ^a	21.14	C ₂₇ H ₄₀ O ₅	Kammogenin ^[20]	445.295 5	1.57	[M+H] ⁺	445.295 5, 427.283 6, 409.273 8, 273.220 8, 255.213 0
40 ^b	21.26	C ₅₀ H ₈₂ O ₂	Anemarrhenasaponin F ^[33]	1 095.516 8	2.99	[M+FA-H] ⁻	1 049.517 5, 917.475 3, 887.464 7, 755.424 6, 593.369 6
41 ^a	21.77	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	Diosgenin ^[19]	415.320 3	-0.72	[M+H] ⁺	397.308 4, 271.205 3, 253.194 7
42 ^b	21.89	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₇	Deltonin ^[35]	931.491 0	1.81	[M+FA-H] ⁻	885.485 3, 739.426 4, 575.357 2, 413.307 7
43 ^a	21.98	C ₃₃ H ₅₀ O ₈	Ruscogenin-rha ^[11]	575.357 7	-0.17	[M+H] ⁺	415.320 3, 273.220 8, 255.210 1
44 ^a	22.28	C ₂₇ H ₄₀ O ₄	9(11)-Dehydrohecogenin ^[18]	429.301	2.56	[M+H] ⁺	411.288 9, 384.297 0, 273.220 8
45 ^a	22.30	C ₅₁ H ₈₈ O ₃₁	Solanigraside E ^[19]	1 195.549 6	8.93	[M-H] ⁻	1 063.496 6, 931.450 1, 417.303 8
46 ^b	22.75	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₉	Chinenoside V ^[30]	961.463 9	-5.16	[M+FA-H] ⁻	915.459 2, 753.409 5, 607.349 2, 445.296 4, 417.292 5
47 ^b	22.83	C ₅₀ H ₈₂ O ₂₂	Hamoside A ^[33]	1 079.528 6	2.81	[M+FA-H] ⁻	1 033.521 0, 901.479 0, 871.470 6, 739.435 5, 577.374 9
48 ^b	23.01	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	Vaviloside B ₁ /B ₂ ^[30]	945.469 8	-6.78	[M+FA-H] ⁻	899.464 7, 753.407 4, 607.349 1, 445.296 1
49 ^a	23.55	C ₂₇ H ₄₂ O ₄	Yuccagenin ^[35]	431.314 1	-3.25	[M+H] ⁺	395.293 0, 273.220 9, 255.075 2
50 ^b	26.20	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	Sansevistatin 1 ^[30]	867.474 1	5.99	[M+H] ⁺	721.414 6, 575.358 3, 413.307 9
51 ^b	26.27	C ₂₇ H ₄₀ O ₃	Episceptrungenin ^[35]	413.326 8	-4.84	[M+H] ⁺	395.292 9, 271.205 1, 253.194 8
52 ^a	26.29	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₈	Capsicosin E1 ^[28]	1 211.570 7	0.42	[M-H] ⁻	1 079.527 1, 593.369 7, 431.317 4
53 ^a	26.31	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₂	Prosapogenin A of dioscin ^[35]	723.428 2	-4.42	[M+H] ⁺	577.392 5, 415.320 0, 271.205 3
54 ^a	26.40	C ₅₁ H ₈₆ O ₂₃	Shatavarin I ^[9]	1 065.550 2	2.44	[M-H] ⁻	903.491 8, 579.388 7, 417.335 4
55 ^b	27.35	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₇	Pennogenin 3-O- β -chacotrioside ^[30]	929.475 1	5.27	[M+FA-H] ⁻	883.469 3, 737.412 4, 496.438 7, 417.401 9
56 ^b	28.66	C ₄₄ H ₇₂ O ₁₆	Smilaxchinoside C ^[30]	901.480 3	-2.88	[M+FA-H] ⁻	855.475 2, 723.433 2, 577.374 1, 415.325 6
57 ^b	28.98	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₃	Timosaponin B IV ^[33]	1 109.501 8	7.33	[M+FA-H] ⁻	1 063.532 7, 901.480 0, 739.427 8, 577.374 6
58 ^b	29.22	C ₅₀ H ₈₂ O ₂₂	Dongnoside E ^[33]	1 079.528 6	0.86	[M+FA-H] ⁻	1 033.522 1, 871.469 5, 739.426 6, 577.374 6
59 ^a	29.42	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₂	Prosapogenin B ^[15]	725.445 5	-2.07	[M+H] ⁺	579.388 4, 417.335 7, 255.210 3
60 ^b	29.47	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	Protobioside ^[35]	947.485 0	5.98	[M+FA-H] ⁻	901.479 7, 739.427 2, 577.374 5, 252.392 5
61 ^b	29.66	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₆	Indioside I ^[30]	915.496 0	-1.89	[M+FA-H] ⁻	869.490 1, 723.431 9, 577.375 2, 415.330 9
Alkaloids							
62 ^c	5.02	C ₄₅ H ₇₁ NO ₁₉	Alkaloid 1 ^[10]	930.467 8	-0.32	[M+H] ⁺	930.467 8, 912.458 2, 894.446 2, 739.974 9
63 ^a	5.41	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₈	Compound 74 isomer ^[10]	916.489 1	0.00	[M+H] ⁺	898.476 8, 829.415 6, 670.498 4, 410.306 1
64 ^a	6.41	C ₄₅ H ₇₁ NO ₁₈	22 α ,23 α -Epoxyolasodine-hex- hex-hex ^[10]	914.473 3	-0.55	[M+H] ⁺	878.452 9, 732.396 7, 424.285 1, 287.201 3
65 ^a	9.18	C ₃₃ H ₅₃ NO ₈	Solasodine-OH-hex ^[10]	592.385 2	2.53	[M+H] ⁺	574.373 0, 433.258 1, 271.205 1
66 ^a	9.24	C ₃₉ H ₆₃ NO ₁₃	Solasodine-OH-hex-hex ^[10]	754.435 9	-0.27	[M+H] ⁺	718.416 3, 572.359 8, 410.304 8
67 ^a	11.59	C ₄₅ H ₇₅ NO ₁₈	Dihydrosolasodine-2OH-hex- hex-rha ^[10]	918.504 7	-0.22	[M+H] ⁺	696.667 0, 396.679 9, 269.189 5
68 ^b	12.35	C ₄₅ H ₇₅ NO ₁₇	Compound 70 isomer ^[21]	902.509 0	-1.99	[M+H] ⁺	884.453 4, 756.415 5, 448.305 3, 430.290 9
69 ^a	12.47	C ₃₉ H ₆₅ NO ₁₃	Dihydrosolasodine-2OH-hex- rha ^[10]	756.451 7	0.00	[M+H] ⁺	738.442 1, 269.189 7, 251.178 9
70 ^b	12.90	C ₄₅ H ₇₅ NO ₁₇	Dihydrosolasodine-2OH-rha- rha-hex ^[21]	902.509 0	-1.99	[M+H] ⁺	884.506 7, 725.094 5, 430.328 7

Continued

No.	t_R /min	Molecular formula	Identification	Mass	Error ($\times 10^{-6}$)	Ion	Fragment ion
71 ^b	13.45	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₇	Compound 76 isomer ^[35]	900.493 7	-1.55	[M+H] ⁺	864.472 3, 834.430 8, 702.418 1, 430.334 3
72 ^c	14.99	C ₄₅ H ₆₉ NO ₁₅	Unknown alkaloid 1	864.474 0	2.31	[M+H] ⁺	583.515 0, 455.002 0, 392.297 3
73 ^a	15.06	C ₂₇ H ₄₃ NO ₄	(3 β ,22 α ,25R)-3,12-Dihydroxy-spirosol-27-oic-acid ^[31]	446.326 0	0.22	[M+H] ⁺	428.315 9, 410.304 8, 395.279 3, 287.200 3
74 ^c	15.21	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₈	Alkaloid 2 ^[10]	916.490 2	0.00	[M+H] ⁺	832.430 1, 592.374 2, 446.326 0, 410.308 5
75 ^c	15.54	C ₄₅ H ₇₁ NO ₁₆	Alkaloid 3 ^[10]	882.483	-0.68	[M+H] ⁺	864.475 3, 795.405 1, 736.425 0, 410.305 0
76 ^b	15.64	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₇	Peimisine+rha+hex+rha+OH ^[35]	900.493 4	-1.89	[M+H] ⁺	882.481 0, 558.377 9, 412.320 4
77 ^a	17.31	C ₃₃ H ₅₅ NO ₇	δ -Tomatine ^[29]	578.403 9	-2.07	[M+H] ⁺	416.336 6, 273.205 5, 255.194 3
78 ^a	17.31	C ₂₇ H ₄₅ NO ₂	Tomatidine ^[29]	416.351 8	-1.20	[M+H] ⁺	398.342 0, 273.221 3, 255.210 4
79 ^d	17.45	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₆	Solanosine	884.498 7	-1.70	[M+H] ⁺	738.430 8, 576.392 5, 414.338 3, 396.328 5
80 ^a	17.49	C ₃₃ H ₅₃ NO ₇	γ -Solamargine ^[29]	576.388 7	-1.21	[M+H] ⁺	576.388 7, 414.336 6, 396.324 1, 271.205 0
81 ^a	17.52	C ₃₉ H ₆₃ NO ₁₂	Solanigroside P ^[35]	738.440 7	-2.17	[M+H] ⁺	414.334 7, 253.194 6, 157.101 0
82 ^b	17.86	C ₅₀ H ₈₁ NO ₁₉	Sycophantine ^[35]	1 000.545 5	-2.10	[M+H] ⁺	868.495 5, 722.420 9, 414.329 7, 396.326 3
83 ^a	18.10	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	δ -Solanigrine ^[35]	868.504 6	-0.69	[M+H] ⁺	722.445 6, 576.388 3, 414.335 6
84 ^a	18.32	C ₄₅ H ₇₅ NO ₁₆	Solaverbascine Solatrioside ^[10]	886.514 6	-1.47	[M+H] ⁺	868.469 8, 740.419 5, 594.357 8, 414.299 1
85 ^b	18.16	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	α -Solanine ^[31]	912.496 0	2.99	[M+FA-H] ⁻	866.490 6, 720.432 7, 412.331 2
86 ^a	20.02	C ₃₉ H ₆₃ NO ₁₁	β 2-Solanine ^[35]	722.446 2	-1.52	[M+H] ⁺	416.351 8, 253.193 7, 157.100 9
87 ^c	20.69	C ₃₉ H ₆₅ NO ₁₁	Unknown alkaloid 2	724.461 2	-1.10	[M+H] ⁺	704.451 2, 445.495 2, 398.344 4
88 ^a	21.98	C ₃₃ H ₅₃ NO ₉	Solasodine-2OH-hex ^[10]	608.275 1	3.62	[M+H] ⁺	599.177 9, 529.257 8, 479.137 6, 447.312 6
89 ^d	25.01	C ₂₇ H ₄₃ NO ₂	Solasodine	414.336 2	-0.97	[M+H] ⁺	396.325 9, 271.204 7, 253.194 7
90 ^a	26.56	C ₂₇ H ₄₅ NO ₂	Compound 56 isomer ^[29]	416.351 7	-1.44	[M+H] ⁺	399.326 2, 273.220 7, 255.210 5
91 ^a	27.55	C ₂₇ H ₃₉ NO ₂	Veratramine ^[18]	410.304 9	0.49	[M+H] ⁺	392.294 3, 297.221 5, 267.174 0, 249.179 1
Flavones							
92 ^a	2.57	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	Isorhamnetin ^[8]	317.059 7	0.00	[M+H] ⁺	317.059 7, 302.032 6, 285.035 8
93 ^a	2.79	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	Quercetin-3-O-rutinosyl-7-O-glucoside ^[24]	771.198 4	-0.65	[M-H] ⁻	301.032 5, 271.024 8, 255.029 8
94 ^b	2.83	C ₃₅ H ₄₂ O ₂₃	Quercetin-3-O-rutinosyl-7-O-glucoside+O+hex+AA ^[32]	829.159 2	-6.27	[M-H] ⁻	771.198 7, 301.032 7, 271.024 8, 255.030 0
95 ^a	3.82	C ₄₂ H ₄₆ O ₂₂	Kaempferol 3-[2-(6-coumaroylglucosyl)-rhamnoside]7-glucoside ^[18]	901.241 0	0.22	[M-H] ⁻	609.139 3, 285.036 0, 255.029 8
96 ^a	3.83	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	Kaempferol 3-rutinoside 4'-glucoside ^[16]	757.217 3	-1.58	[M+H] ⁺	449.106 4, 303.049 5, 287.054 6, 258.051 1
97 ^b	4.46	C ₄₃ H ₄₈ O ₂₄	3-(2-Feruloylsophoroside) ^[34]	947.229	-7.71	[M-H] ⁻	785.193 5, 609.147 6, 446.085 1, 285.030 1
98 ^a	4.50	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	Quercetin 3,4-diglucoside ^[23]	625.141 2	0.32	[M-H] ⁻	301.033 6, 300.027 6, 283.024 7, 255.029 8
99 ^c	4.60	C ₂₉ H ₃₂ O ₁₉	Unknown flavone 1	683.099 3	-0.73	[M-H] ⁻	625.141 2, 301.033 9, 271.024 8
100 ^b	4.62	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₈	Isoscutellarein 7-O-[2,6-di-O-acetyl]allosyl(1 \rightarrow 2)glucoside ^[32]	693.128 4	1.73	[M-H] ⁻	625.141 9, 301.034 2, 271.024 8, 255.029 9
101 ^b	4.64	C ₃₁ H ₃₅ O ₁₉	Peonidin, 3-(6-malonylglucoside), 5-glucoside ^[32]	710.118 0	-4.08	[M-H] ⁻	625.141 4, 301.826 9, 271.907 2
102 ^c	5.04	C ₃₁ H ₃₅ O ₁₈	Unknown flavone 2	694.119 8	-6.05	[M-H] ⁻	609.146 5, 301.032 0, 271.024 8
103 ^a	5.14	C ₂₉ H ₃₂ O ₁₈	Euphorbianin ^[32]	667.104 9	-0.15	[M-H] ⁻	609.145 6, 477.043 4, 300.027 6
104 ^c	5.19	C ₁₈ H ₁₂ O ₇	Unknown flavone 3	341.082 4	-9.38	[M+H] ⁺	301.142 0, 285.039 1, 257.036 9
105 ^b	5.36	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₇	Pelargonidin 3,5-di-(6-acetylglucoside) ^[34]	677.133 5	-0.74	[M-H] ⁻	609.146 6, 271.024 7, 255.030 0
106 ^a	5.98	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Kaempferol-3-O-sophoroside ^[20]	611.163 7	4.91	[M+H] ⁺	449.109 5, 303.048 9, 287.054 7
107 ^c	6.10	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	Unknown flavone 4	629.171 2	3.66	[M+H] ⁺	445.154 1, 385.134 6, 303.092 7, 285.081 6
108 ^a	6.12	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	Trihydroxy flavone C-glc ^[12]	433.112 5	-1.15	[M+H] ⁺	369.124 4, 287.054 7, 213.054 2
109 ^b	6.14	C ₃₁ H ₃₅ O ₁₇	Pelargonidin 3,5-di-(6-acetylglucoside) ^[32]	678.125 2	-5.60	[M-H] ⁻	593.151 3, 273.123 2, 255.029 9
110 ^b	6.14	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₆	Crassirhizomside B ^[32]	661.139 1	-8.02	[M-H] ⁻	593.152 7, 447.093 0, 431.096 9
111 ^a	6.33	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	Apigenin 6-C-glucosyl-O-arabinoside ^[24]	563.140 4	-0.36	[M-H] ⁻	417.084 1, 255.030 0, 227.035 2
112 ^c	6.81	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₅	Unknown flavone 5	651.109	-1.54	[M-H] ⁻	593.150 1, 284.033 1, 255.030 8
113 ^a	7.03	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Hyperoside ^[12]	463.087 6	-1.08	[M-H] ⁻	301.034 3, 271.024 9, 255.029 8
114 ^a	7.24	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₆	Tetrahydroxymethoxyflavone O-dihex ^[12]	641.207 9	-0.47	[M+H] ⁺	317.065 2, 302.041 8, 285.038 7, 229.048 9
115 ^b	7.40	C ₄₃ H ₄₈ O ₂₃	Kaempferol-3-neohesperidoside-7-(2-ferulylglucoside) ^[32]	931.249 2	-3.01	[M-H] ⁻	785.193 5, 609.148 3, 430.089 5, 285.039 8

Continued

No.	t_R /min	Molecular formula	Identification	Mass	Error ($\times 10^{-6}$)	Ion	Fragment ion
116 ^c	7.45	C ₄₃ H ₄₈ O ₂₃	Unknown flavone 6	933.265 9	-8.61	[M+H] ⁺	583.413 1, 433.113 9, 287.055 6, 258.052 3
117 ^a	7.49	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Quercetin-3- <i>O</i> -galactoside ^[13]	465.100 2	-5.38	[M+H] ⁺	303.049 7, 285.038 6, 165.016 8, 85.027 1
118 ^b	7.51	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₄	Cyanidin 3-(6-succinyl-glucoside) ^[34]	548.117 1	0.00	[M-H] ⁻	463.084 4, 447.197 5, 285.084 4, 255.083 9
119 ^a	9.26	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside ^[24]	447.093 4	0.45	[M-H] ⁻	447.093 4, 285.038 7, 255.029 9, 227.035 0
120 ^a	10.43	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₂	Glucodistylin ^[23]	449.107 4	0.89	[M+H] ⁺	449.107 4, 287.054 6, 258.051 5, 213.054 2
121 ^a	11.37	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	Tetrahydroxy-methoxyflavone 3- <i>O</i> -hex ^[12]	479.118 0	-0.83	[M+H] ⁺	479.118 0, 393.186 2, 317.065 1, 285.038 6
122 ^a	17.25	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Quercetion ^[24]	301.035 5	0.33	[M-H] ⁻	271.025 0, 255.041 1, 163.015 9, 83.027 6
123 ^c	18.91	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₅	Unknown flavone 7	647.197 0	1.89	[M-H] ⁻	595.383 5, 577.374 8, 393.202 2, 316.167 9
124 ^a	26.03	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Rutin ^[26]	609.146 4	0.49	[M-H] ⁻	429.206 6, 380.366 4, 315.050 0, 275.201 7
125 ^a	26.65	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside-7- <i>O</i> -rhamnoside ^[20]	593.151 2	0.17	[M-H] ⁻	418.226 8, 299.043 8, 225.007 5
126 ^a	31.39	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	Kaempferitrin ^[16]	577.156 8	0.69	[M-H] ⁻	428.284 1, 299.044 6, 225.007 5
Others							
127 ^a	0.96	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Sucrose ^[8]	341.108 9	-0.59	[M-H] ⁻	179.056 2, 119.036 0, 89.024 4
128 ^a	0.97	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	Histidine ^[22]	156.076 6	-1.28	[M+H] ⁺	131.974 4, 110.071 6
129 ^a	1.02	C ₆ H ₁₂ O ₇	Galacturonic acid ^[11]	195.050 9	-0.51	[M-H] ⁻	177.040 5, 159.029 9
130 ^a	1.07	C ₉ H ₁₁ NO ₃	Tyrosine ^[11]	182.081 0	-0.55	[M+H] ⁺	165.045 7, 136.075 8, 107.049 7
131 ^a	1.16	C ₆ H ₅ NO ₂	Nicotinic acid ^[22]	124.039 6	2.42	[M+H] ⁺	106.029 4, 80.050 0, 78.034 4
132 ^a	1.17	C ₁₂ H ₂₁ NO ₆	9-Amino-1,3,9-nonane dicarboxylic acid ^[11]	276.144 4	1.09	[M+H] ⁺	258.133 6, 230.138 7, 161.068 3
133 ^a	1.10	C ₆ H ₁₁ NO ₂	Pipecolic acid ^[8]	130.049 8	-9.22	[M+H] ⁺	84.044 8, 67.053 7, 62.024 6, 56.048 9
134 ^a	1.13	C ₅ H ₇ NO ₃	Pyroglutamic acid ^[8]	130.050 1	1.54	[M+H] ⁺	84.044 9, 69.070 5, 56.050 1
135 ^a	1.63	C ₁₀ H ₁₃ N ₄ O ₃	Histidyl asparagine ^[11]	238.106 7	2.94	[M+H] ⁺	192.102 2, 120.995 9, 103.054 6
136 ^a	1.73	C ₁₂ H ₁₅ NO ₅	Serine ^[11]	254.102 1	-0.39	[M+H] ⁺	208.058 2, 136.990 6, 119.118 4
137 ^a	1.87	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	Tryptophan ^[8]	205.097 2	0.49	[M+H] ⁺	188.070 7, 170.060 1, 159.091 8
138 ^a	1.87	C ₁₁ H ₉ NO ₂	Indole-3-acrylic acid ^[11]	188.070 3	-1.60	[M+H] ⁺	146.060 2, 186.065 4
139 ^a	1.92	C ₇ H ₆ O ₄	Protocatechuic acid ^[8]	153.019 4	2.61	[M-H] ⁻	109.029 5, 91.018 9, 81.034 6
140 ^a	2.48	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Chlorogenic acid ^[8]	355.100 1	-6.20	[M+H] ⁺	181.050 1, 145.026 7, 135.041 6, 117.033 7
141 ^a	3.08	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Neochlorogenic acid ^[11]	353.089 9	-2.27	[M-H] ⁻	191.056 2, 179.035 2, 162.027 8
142 ^a	3.13	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	Vitamin B ₂ ^[8]	377.144 9	1.86	[M+H] ⁺	243.087 3, 172.086 6, 99.044 3,
143 ^a	3.34	C ₉ H ₈ O ₄	Caffeic acid ^[8]	179.034 7	-1.12	[M-H] ⁻	135.044 6, 112.984 9, 89.023 5
144 ^a	3.49	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	<i>p</i> -Coumaroylquinic acid ^[8]	339.106 9	-1.47	[M+H] ⁺	147.043 9, 119.049 2, 91.054 5
145 ^a	4.01	C ₅ H ₅ N ₅	Adenine ^[8]	136.061 8	0.73	[M+H] ⁺	119.049 3, 94.065 5, 92.049 7
146 ^a	5.44	C ₉ H ₈ O ₃	<i>p</i> -Coumaric acid ^[8]	163.040 6	0.00	[M-H] ⁻	119.051 1, 91.053 7
147 ^a	5.56	C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	Glycyl- <i>L</i> -leucine ^[11]	189.121 8	-7.93	[M+H] ⁺	171.149 0, 130.086 2, 84.081 2
148 ^a	7.42	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	Isoferulic acid ^[8]	195.063 9	-6.66	[M+H] ⁺	177.054 4, 149.059 6, 117.033 5
149 ^a	8.24	C ₅ H ₉ NO ₄	<i>L</i> -Glutamic acid ^[8]	148.060 2	-1.35	[M+H] ⁺	130.069 2, 103.054 4, 84.044 7
150 ^a	8.54	C ₆ H ₁₂ O ₇	Glucuronic acid ^[8]	197.063 9	-8.63	[M+H] ⁺	179.106 4, 161.095 9, 133.101 1
151 ^a	8.58	C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	Compound 147 isomer ^[11]	189.121 8	-7.93	[M+H] ⁺	156.093 1, 129.070 0, 105.070 1
152 ^a	9.65	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	Uridine ^[22]	245.079 1	9.38	[M+H] ⁺	203.123 7, 189.112 0, 135.080 1
153 ^a	11.67	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	Serdanolid ^[8]	195.137 6	-1.54	[M+H] ⁺	167.085 0, 135.044 0, 111.044 2
154 ^a	21.65	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	Ferulic acid ^[22]	195.063 2	-9.74	[M+H] ⁺	177.091 1, 149.067 2, 89.065 9
155 ^a	26.49	C ₂₃ H ₂₄ O ₉	Diferuloylglycerol ^[8]	445.147 9	-3.15	[M+H] ⁺	271.205 2, 253.194 7
156 ^a	27.87	C ₁₆ H ₃₀ O	Muscone ^[8]	239.235 7	-5.02	[M+H] ⁺	183.116 6, 197.132 2, 119.085 7, 81.068 6
157 ^a	28.20	C ₁₈ H ₃₅ NO	Oleamide ^[8]	282.278 7	-1.42	[M+H] ⁺	247.241 6, 135.116 8, 121.101 2

生成昔元离子, 即相应的皂昔元。在正离子模式下, 以替告皂昔元为昔元的龙葵皂昔元脱去糖基后会产生 m/z 417.335 7 [M+H]⁺, 进一步失去 H₂O 分子产生碎片 m/z 399.326 4 [M+H-H₂O]⁺, 随后失去侧链 C₈H₁₆O₂ 得到特征碎片 m/z 255.210 4 [M+H-H₂O-C₈H₁₆O₂]⁺, 或直接失去侧链 C₈H₁₆O₂ 得到特征碎片 m/z 273.220 8 [M+H-C₈H₁₆O₂]⁺ (表2)。薯蓣皂昔元比替告皂昔元多了 C5, C6 位的不饱和双键, 因此薯蓣皂昔元和替告皂昔元有

相似的裂解规律。正离子模式下, 以薯蓣皂昔元为昔元的皂昔在脱去糖基后产生 m/z 415.320 3 [M+H]⁺, 然后依次失去 H₂O、C₈H₁₆O₂ 得到碎片 m/z 397.308 4 [M+H-H₂O]⁺、 m/z 253.194 7 [M+H-H₂O-C₈H₁₆O₂]⁺, 或直接失去 C₈H₁₆O₂ 得到特征碎片 m/z 271.205 3 [M+H-C₈H₁₆O₂]⁺。furosta-5 β ,3 β ,20 α ,26-triol 为呋甾烷醇型甾体皂昔, 该皂昔元在 F 环处为开环结构^[14], 正离子模式下, 以 furosta-5 β ,3 β ,20 α ,26-triol 为昔元的皂昔在脱去

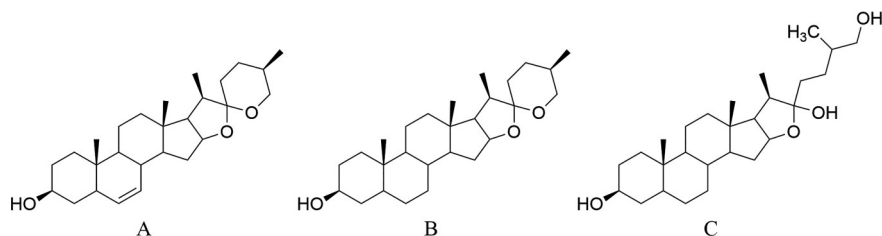


Figure 2 Structural formula of saponins aglycone in the leaves of *Solanum nigrum*. A: Diosgenin; B: Tigogenin; C: Furosta-5 β ,3 β ,20 α ,26-triol

糖基后产生 m/z 435.270 4 $[M+H]^+$, 然后依次失去 H_2O 、 $C_8H_{16}O_2$ 、 H_2O 得到碎片 m/z 417.266 5 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 273.221 5 $[M+H-H_2O-C_8H_{16}O_2]^+$, 或直接失去 $C_8H_{16}O_2$ 得到特征碎片 m/z 291.215 5 $[M+H-C_8H_{16}O_2]^+$ 。

Table 2 Characteristic fragments of saponins aglycone in the leaves of *Solanum nigrum*

Aglycone	Adduct ion	Characteristic ion
Diosgenin	$[M+H]^+$	415.320 3, 397.308 4, 271.205 3, 253.194 7
Tigogenin	$[M+H]^+$	417.335 7, 399.326 4, 273.220 8, 255.210 4
Furosta-5 β ,3 β ,20 α ,26-triol	$[M+H]^+$	435.270 4, 417.266 5, 291.215 5, 273.221 5

除了甾体皂苷类, 龙葵中还富含甾体生物碱类成分。通过文献报道、数据库比对共解析出 22 个生物碱化合物, 其中包括以藜芦胺 (veratramine, 图 3A) 为苷元的甾体生物碱 5 个, 以澳洲茄胺 (solasodine, 图 3B) 为苷元的甾体生物碱 8 个、番茄碱 (tomatidine, 图 3C) 为苷元的甾体生物碱 5 个, 以 spiroisol-5-ene-3,12-diol (图 3D) 为苷元的甾体生物碱 2 个, 以及其他类型苷元的甾体生物碱 2 个。这 4 类生物碱苷元的特征离子碎片如表 3 所示。

龙葵生物碱类化合物具有如下质谱裂解规律 (表

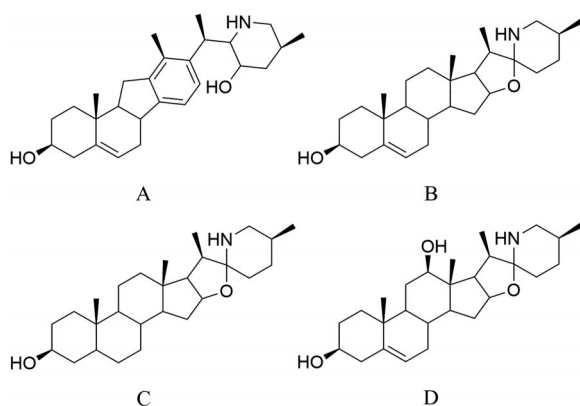


Figure 3 Structural formula of alkaloids aglycone in the leaves of *Solanum nigrum*. A: Veratramine; B: Solasodine; C: Tomatidine; D: Spirosol-5-ene-3,12-diol

Table 3 Characteristic fragments of alkaloids aglycone in the leaves of *Solanum nigrum*

Aglycone	Adduct ion	Characteristic ion
Veratramine	$[M+H]^+$	410.304 9, 392.294 3, 295.221 5, 267.174, 249.179 1
Solasodine	$[M+H]^+$	414.336 2, 396.325 9, 271.204 7, 253.194 7
Tomatidine	$[M+H]^+$	416.351 8, 398.342 1, 273.221 3, 255.210 4
Spirosol-5-ene-3,12-diol	$[M+H]^+$	430.331 2, 412.320 7, 394.313 1, 271.205 6

3)。澳洲茄胺比番茄碱多了 C5, C6 位的不饱和双键, spiroisol-5-ene-3,12-diol 比澳洲茄胺多了一个羟基取代, 因此 spiroisol-5-ene-3,12-diol、澳洲茄胺和番茄碱为苷元的甾体生物碱具有相似的裂解规律 (表 2)。如以番茄碱为苷元的生物碱在正离子模式下脱去糖基后产生 m/z 416.351 8 $[M+H]^+$, 然后依次失去 H_2O 、 $C_8H_{17}NO$ 得到碎片 m/z 398.342 1 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 255.210 4 $[M+H-H_2O-C_8H_{17}NO]^+$, 或直接失去 $C_8H_{17}NO$ 得到特征碎片 m/z 273.221 3 $[M+H-C_8H_{17}NO]^+$ 。藜芦胺结构与其他生物碱苷元不同, 其裂解规律也有区别。正离子模式下, 以藜芦胺为苷元的生物碱在脱去糖基后产生 m/z 410.304 9 $[M+H]^+$, 然后失去 $C_{22}-C_{27}$ 部分 ($C_6H_{12}NO$) 得到碎片 m/z 295.221 5 $[M+H-C_6H_{12}NO]^+$, 进而得到 m/z 267.174 0 $[M+H-C_6H_{12}NO-2CH_2]^+$ 。此外, m/z 410.304 9 $[M+H]^+$ 还可依次失去 H_2O 和 $C_8H_{13}O$ 得到 m/z 392.294 3 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 249.179 1 $[M+H-H_2O-C_8H_{17}NO]^+$, 或直接失去 $C_8H_{17}NO$ 得到 m/z 267.174 0 $[M+H-C_8H_{17}NO]^+$ 。

由于龙葵中皂苷类成分和生物碱成分结构相似, 所以皂苷类化合物和生物碱类化合物聚集在同一个分子网络图中。如图 4 所示, 分子网络中包含 15 个生物碱类节点和 56 个皂苷类节点。

化合物 50 在分子网络中的准分子离子为 m/z 867.474 1 $[M+H]^+$, 与纤细薯蓣皂苷 (gracillin, 分子离子为 m/z 885.481 9 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{45}H_{72}O_{17}$) 之间存在 m/z 18.01 的质量差, 对应 2 个 H 和 1 个 O, 故推测

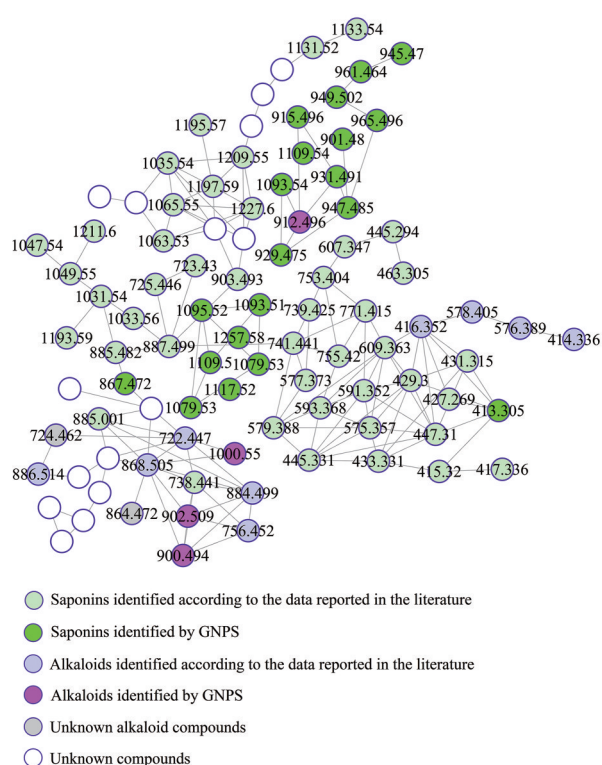


Figure 4 GNPS molecular network of alkaloids and saponins from the leaves of *Solanum nigrum*

化合物 50 的分子式为 $C_{45}H_{70}O_{16}$ 。从质谱图中提取该化合物的二级碎片信息,在正离子模式下,二级质谱图中化合物 50 呈现的裂解途径为 m/z 867.474 1 \rightarrow m/z 721.414 6 \rightarrow m/z 575.358 3 \rightarrow m/z 413.307 9, 质量数依次相差 m/z 162.05、146.05、146.05, 提示该化合物 50 可能是以 episceptrumgenin 为苷元,以 hex、rha 和 rha 为糖基取代基,推测化合物 50 为 sansevistatin I (图 5A)。通过分子网络技术,共推测 20 个皂苷类化合物,其中 2 个

皂苷化合物为 episceptrumgenin 的衍生物,而另外 18 个皂苷化合物为 furosta-5 β ,3 β ,20 α ,26-triol 的衍生物,20 个皂苷化合物均为首次在龙葵中报道。

化合物 82 在分子网络中的准分子离子为 m/z 1 000.545 5 $[M+H]^+$,与澳洲茄边碱 (δ -solanigrine, 分子离子为 m/z 868.504 6 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{45}H_{73}NO_{15}$) 之间存在 m/z 132.05 的质量差,对应 1 个木糖 ($C_4H_8O_4$),故推测其分子式为 $C_{45}H_{73}NO_{17}$ 。化合物 82 的裂解途径与澳洲茄边碱相似,推测其以澳洲茄胺为苷元,具有 2 个 rha、1 个 hex 和 1 个 xyl 为取代基的生物碱化合物,可能为 sycophantine (图 5B)。通过分子网络技术,解析出 4 个生物碱节点,由于存在同分异构体,涉及 6 个首次在龙葵中报道的生物碱化合物,包括以澳洲茄胺为苷元的 1 个,以番茄碱为苷元的 1 个,以贝母辛 (peimisine) 为苷元的 2 个,以 spiroisol-5-ene-3,12-diol 为苷元的 2 个。

1.2 黄酮类 龙葵除了皂苷、生物碱类化合物外,还含有黄酮类物质。龙葵黄酮类化合物多以异鼠李素、槲皮素和山柰酚为母核。通过文献比对和质谱裂解规律的分析,鉴定出黄酮类化合物 19 个,其中包括以槲皮素为母核的化合物有 6 个,以山柰酚为母核的化合物 9 种,以异鼠李素为母核的化合物有 4 个。

化合物 97 在分子网络中的准分子离子为 m/z 947.229 0 $[M-H]^-$,化合物 97 与已鉴定的化合物 95 ($C_{42}H_{46}O_{22}$, m/z 901.241 0 $[M-H]^-$) 之间存在 m/z 46.001 的质量差,差值对应 1 个 CH_2O 和 1 个 O,推测化合物 97 的分子式为 $C_{43}H_{48}O_{24}$ 。根据其裂解途径 (图 6): m/z 947.229 0 $[M-H]^-$ 、 m/z 785.193 5 $[M-H-hex]^-$ 、 m/z 609.147 6 $[M-H-hex-ferulic\ acid]^-$ 、 m/z 447.085 1 $[M-H-hex-FA-hex]^-$ 、285.030 1 $[M-H-hex-FA-hex-hex]^-$,

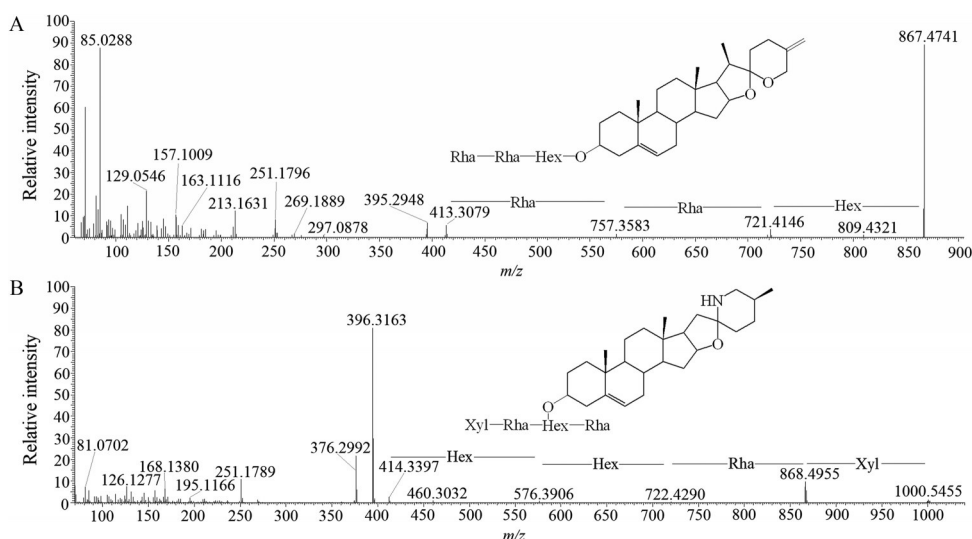


Figure 5 Mass spectrum fragmentation pathways of sansevistatin I (A) and sycophantine (B)

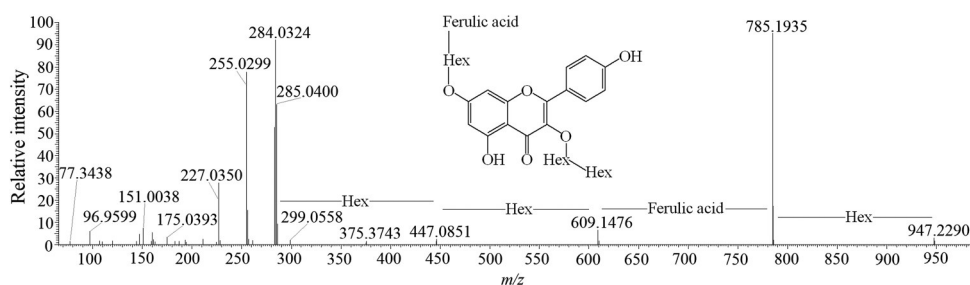


Figure 6 Mass spectrum fragmentation pathways of 3-(2-feruloylsophoroside)

255.029 9 [M-H-hex-FA-hex-hex-CO-H]⁻, 推测母核为山柰酚, 并具有 3 个 hex 和 1 个阿魏酸 (ferulic acid) 取代基, 结构可能为 3-(2-feruloylsophoroside)。通过分子网络技术, 鉴定了 9 个黄酮节点 (图 7), 这 9 个黄酮类分子式均为首次在龙葵中报道, 包括以槲皮素为母核的 2 个, 以山柰酚为母核的 5 个, 以贝母辛为母核的 1 个, 以异鼠李糖苷为母核的 1 个。

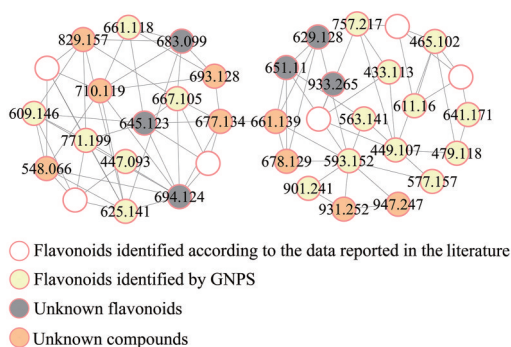


Figure 7 GNPS molecular network of flavonoids from the leaves of *Solanum nigrum*

1.3 其他化合物 龙葵中除了皂苷、黄酮、生物碱等化合物外还存在氨基酸类、酚酸类等化合物^[11], 这些化合物分别为: 12 个氨基酸类化合物 (包括组氨酸、缬氨酸、丝氨酸和色氨酸等); 2 个核苷类化合物 (包括尿苷, 腺嘌呤); 7 个酚酸类化合物 (包括绿原酸、新绿原酸和咖啡酸等); 2 个维生素类化合物 (烟酸、维生素 B₂); 2 个糖醛酸类化合物 (葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸); 2 个内酯类化合物 (包括瑟丹内酯、对香豆酸); 还包括蔗糖、酰胺等其他类化合物, 共计 31 个化合物。

讨论

本研究采用 UHPLC-Q Exactive MS 结合 GNPS 分子网络技术对龙葵叶的化学成分进行了鉴定, 共鉴定化合物 157 个, 包括生物碱 30 个、皂苷化合物 61 个、黄酮化合物 35 个、氨基酸类和酚酸类等化合物 31 个。其中通过与文献报道的数据比较鉴定出 122 个化合物,

借助 GNPS 分子网络技术后进一步解析了 35 个化合物, 均为首次在龙葵中报道的化合物, 包括 6 个生物碱类、20 个甾体皂苷、9 个黄酮。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, 基于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^[8], 能够加速促进未知化合物的指认。本研究将 UHPLC-Q Exactive MS 与 GNPS 分子网络技术结合, 实现了对龙葵叶的化学成分进行快速、全面地鉴定。

课题组前期从龙葵茎^[11]中共鉴定化合物 89 个, 包括甾体生物碱 5 个、黄酮 1 个、甾体皂苷 28 个, 以及其他类型化合物 55 个; 从龙葵果^[10]中鉴定化合物 170 个, 包括甾体生物碱 114 个、黄酮 2 个、5 种甾体皂苷 5 个, 以及其他结构化合物 49 个。可见, 龙葵果富含多种甾体生物碱成分, 而龙葵茎富含多种甾体皂苷成分。与龙葵果和龙葵茎相比, 龙葵叶中甾体皂苷、甾体生物碱、黄酮类成分的种类均较为丰富。从化学多样性来看, 龙葵茎、叶、果 3 个不同的部位各有特点。研究结果为龙葵药材资源的精准利用奠定了基础。然而, 目前的结果仅仅是化学成分种类的比较, 在后续的工作中还将通过代谢组学结合多指标含量测定对 3 个不同的部位进行含量的比较。

作者贡献: 董现龙、杨琳娇负责实验研究工作及数据分析处理, 并撰写稿件; 秦雪梅参与文章的监督和修改; 李震宇对整个研究工作进行设计、监督和指导, 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] Zhao Y, Liu F, Lou HX. Studies on the chemical constituents of *Solanum nigrum* [J]. J Chin Med (中药材), 2010, 33: 555-556.
- [2] Gao SG. Studies on Isolation, Purification, Antitumor Activity and Its Molecular Mechanism of Saponin from *Solanum nigrum* L. (龙葵皂苷分离纯化、体外抗肿瘤活性及其分子机制研究) [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2011.
- [3] Chen XY. Study on Chemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of *Mentha haplocalyx* Briq. (薄荷酚类部位化学成

- 分及抗炎活性研究 [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2016.
- [4] Li XF, Shi HM, Xv M, et al. HPLC fingerprint chromatogram analysis of some taraxacum in Henan province [J]. J Chin Med (中药材), 2008, 296: 1470-1473.
- [5] Campisi A, Acquaviva R, Raciti G, et al. Antioxidant activities of *Solanum nigrum* L. leaf extracts determined in vitro cellular models [J]. Foods, 2019, 8: 63.
- [6] Zaidi SK, Ansari SA, Tabrez S, et al. Antioxidant potential of *Solanum nigrum* aqueous leaves extract in modulating restraint stress-induced changes in rat's liver [J]. J Pharm Bioallied Sci, 2019, 11: 60-68.
- [7] Fan Q, Cheng XB, Wang YM, et al. Diterpenoid alkaloids of the processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and GNPS [J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni (中山大学学报 自然科学版), 2021, 60: 3044.
- [8] Wei R, Yang LJ, Qin XM, et al. Rapid identification of chemical constituents in the dried stem bark of *Asparagus Officinalis* L. based on UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 2839-2850.
- [9] Dong M, Wu LJ, Chen Q, et al. Isolation and identification of steroidal saponins from *Dioscorea panthaica* Prain et Burkill [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2001, 36: 42-45.
- [10] Yang L, Gao S, Su Z, et al. Identification of the constituents and the cancer-related targets of the fruit of *Solanum nigrum* based on molecular docking and network pharmacology [J]. J Pharm Biomed Anal, 2021, 200: 114067.
- [11] Gao SH, Su ZZ, Yang LJ, et al. Chemical studies on the stems of *Solanum nigrum* L. by LC-MS and NMR [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 1263-1273.
- [12] Geng Z, Gao BX, Zhong, et al. Analysis of flavonoids and phenylethanoid glycosides in the Tibetan herb *Lagotis breviflora* Maxim based on UHPLC-LTQ-orbitrap-MS [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 2821-2838.
- [13] Wang Y, Xiang L, Yi X, et al. Potential Anti-inflammatory steroidal saponins from the berries of *Solanum nigrum* L. (European Black Nightshade) [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65: 4262-4272.
- [14] Guo XD, Yang CG, Xiao CH, et al. HILIC-UPLC-MS/MS identification of saponins in *Anemarrhena asphodeloides* [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2021, 36: 7292-7301.
- [15] Hayes PY, Jahidin AH, Lehmann R, et al. Steroidal saponins from the roots of *Asparagus racemosus* [J]. Phytochemistry, 2008, 69: 796-804.
- [16] Jia Y, Wu B, Fan M, et al. High-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry for metabolism study of timosaponin AIII [J]. J Chromatogr Sci, 2014, 52: 418-422.
- [17] Li R, Zhou Y, Wu Z, et al. ESI-QqTOF-MS/MS and APCI-IT-MS/MS analysis of steroid saponins from the rhizomes of *Dioscorea panthaica* [J]. J Mass Spectrom, 2006, 41: 1-22.
- [18] Li J, Yang D, Yu K, et al. Determination of diosgenin content in medicinal plants with enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Planta Med, 2010, 76: 1915-1920.
- [19] Król-Kogus B, Glód D, Krauze-Baranowska M. Qualitative and quantitative HPLC-ELSD-ESI-MS analysis of steroidal saponins in fenugreek seed [J]. Acta Pharm, 2020, 70: 89-99.
- [20] Leal-Díaz AM, Santos-Zea L, Martínez-Escobedo HC, et al. Effect of *Agave americana* and *Agave salmiana* ripeness on saponin content from aguamiel (Agave Sap) [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63: 3924-3930.
- [21] Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences. A class of glycoside alkaloids and their uses: CN, 201911174866.3 [P]. 2020-07-24.
- [22] Wang XQ, Chang J, Zhang Q, et al. The mechanism of *Isatis Radix* in the prevention of influenza and COVID-19 by HPLC-Q-TOF-MS combined with network pharmacology [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 3173-3185.
- [23] Deng H. Study on Steroidal Saponin Constituents (菝葜的甾体皂苷成分及其抗肿瘤活性研究) [D]. Guanzhou: Southern Medical University, 2017.
- [24] 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.
- [25] Yuan B, Byrnes D, Giurleo D, et al. Rapid screening of toxic glycoalkaloids and micronutrients in edible nightshades (*Solanum* spp) [J]. J Food Drug Anal, 2018, 26: 751-760.
- [26] Nie X, Pang L, Xian J, et al. Integrated bibliometrics, serum pharmacokinetics and network pharmacological analysis used to preliminarily identify critical quality attributes of classic prescription Huaganjian [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53: 382-394.
- [27] Murakami T, Kishi A, Matsuda H, et al. Medicinal foodstuffs. XVII. Fenugreek seed. (3): Structures of new furostanol-type steroid saponins, trigoneosides Xa, Xb, XIb, XIIa, XIIb, and XIIIa, from the seeds of Egyptian *Trigonella foenum-graecum* L. [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2000, 48: 994-1000.
- [28] Montoro P, Skhirtladze A, Perrone A, et al. Determination of steroidal glycosides in *Yucca gloriosa* flowers by LC/MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 52: 791-795.
- [29] Choi SH, Ahn JB, Kozukue N, et al. Structure-activity relationships of α -, $\beta(1)$ -, γ -, and δ -tomatine and tomatidine against human breast (MDA-MB-231), gastric (KATO-III), and prostate (PC3) cancer cells [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60: 3891-3899.
- [30] Huang FQ, Dong X, Yin X, et al. A mass spectrometry database for identification of saponins in plants [J]. J Chromatogr A, 2020, 1625: 461296.
- [31] Wu T. Study on the antitumor Material Basis of *Solanum lyratum* and Its Intervention with Exosomes to Inhibit Metastasis of Non-

- Small Cell Lung Cancer (中药白英抗肿瘤物质基础及其干预外泌体抑制非小细胞肺癌转移研究) [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2021.
- [32] Ma MJ. Study on Chemical Constituents and Bioactivities of the Fruits of *Cyclocodon lancifolius* (Roxburgh) Kurz (轮钟花果实的化学成分及生物活性研究) [D]. Shanghai: China State Institute of Pharmaceutical Industry, 2022.
- [33] Ji D, Huang ZY, Fei CH, et al. Comprehensive profiling and characterization of chemical constituents of rhizome of *Anemarrhena asphodeloides* Bge. [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1060: 355-366.
- [34] Zhou ZQ, Xiao J, Fan HX, et al. Polyphenols from wolfberry and their bioactivities [J]. Food Chem, 2017, 14: 644-654.
- [35] Zhu J, Guo X, Fu S, et al. Characterization of steroidal saponins in crude extracts from *Dioscorea Zingiberensis* C. H. Wright by ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 53: 462-474.