

UPLC-Q-TOF-MS 快速鉴定黄山野生绞股蓝中皂苷类物质

程满环^{1*}, 郑雪怡², 朱媛媛², 张娜²黄山学院现代教育技术中心;² 黄山学院化学化工学院, 黄山 245041

摘要:为鉴定黄山野生绞股蓝中皂苷类成分,为黄山野生绞股蓝的开发利用提供理论基础。实验选取超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱联用技术(UPLC-Q-TOF-MS),采用 waters Acquity HSS T3 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm),以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相,梯度洗脱。质谱采用电喷雾(ESI)离子源,在正离子模式下采集数据,首先选取4种具有达玛烷型结构的皂苷标准品进行分析,总结达玛烷型皂苷类物质质谱裂解规律及特征离子碎片信息,再依据这些规律快速鉴定黄山野生绞股蓝中的皂苷类物质。从黄山野生绞股蓝中共鉴别出25种皂苷类物质,其中有6个化合物在该植物中属首次发现。

关键词:UPLC-Q-TOF-MS; 绞股蓝; 皂苷类; 裂解规律

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)6-1046-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.6.019

Identification of saponins in wild *Gynostemma pentaphyllum* of Huangshan by UPLC-Q-TOF-MS

CHENG Man-huan^{1*}, ZHENG Xue-yi², ZHU Yuan-yuan², ZHANG Na²

¹Modern Educational Technology Center, Huangshan University;

²College of Chemistry and Chemical Engineering, Huangshan University, Huangshan 245041, China

Abstract:To identify the saponins in wild *Gynostemma pentaphyllum* of Huangshan which provides theoretical basis for the development and utilization of wild *Gynostemma pentaphyllum* in Huangshan. Ultra performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was selected for the study. The separation was performed on waters Acquity HSS T3 column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), with a mobile phase using water containing 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) for gradient elution. Q-TOF-MS and electrospray ion (ESI) source were applied for the analysis under the positive mode. Firstly, 4 saponins with the damanane type structure were selected for analysis. Then, the fragmentation regularity and the characteristic fragments of saponins with the damanane type structure were explored which applied to identify the saponins in wild *Gynostemma Pentaphyllum* of Huangshan. 25 saponins were identified in wild *Gynostemma pentaphyllum* of Huangshan, including 6 saponins identified for the first time in *Gynostemma pentaphyllum*.

Key words:UPLC-Q-TOF-MS; *Gynostemma pentaphyllum*; saponins; fragmentation regularity

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 为葫芦科绞股蓝属(*Gynostemma* Bl.)多年生草质藤本植物,主要散布在中国的湖南,湖北,云南,广西等省,被誉为“南方人参”、“不老长寿药草”^[1]。其药用价值很高,现代研究表明,绞股蓝具有降三高、抗衰老、提高免疫力、抗肿瘤等功能^[2-6]。绞股蓝中含有丰富的皂苷类、黄酮类、多种氨基酸和微量元

素等,其中,皂苷类物质是绞股蓝主要活性物质,一直是研究的热点,文献报道已有一百多种皂苷类物质从绞股蓝中分离鉴定出来,绞股蓝皂苷与人参皂苷结构相似,主要为达玛烷型结构^[7-9]。

目前,绞股蓝皂苷提取、分离、鉴定的主要方法是“通法”提取、分离得到纯品后进行表征^[10-13]。整个流程存在工作量大,耗时、消耗大量溶剂等不足。超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱联用技术(UPLC-Q-TOF-MS)能快速实现中药复杂体系中化学成分分离鉴定,已成为中药化学研究的一个活跃领域^[14-18]。

收稿日期:2018-11-29 接受日期:2019-04-22

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目(KJHS2017B14, KJHS2017B03, KJ2016A683);国家级大学生创新创业训练计划(201810375020)

*通信作者 Tel:86-559-2546502; E-mail:cmh@hsu.edu.cn

黄山野生绞股蓝资源非常丰富,但基本处于未开发利用状态。本项目拟选取黄山野生绞股蓝为研究对象,采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术,以具有代表性的达玛烷型皂苷标准品裂解规律和特征碎片离子为诊断信息,结合 Masslynx 软件、ChemSpider 数据库以及文献资料,分离鉴定黄山野生绞股蓝中皂苷类物质,为黄山野生绞股蓝的开发、利用提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱仪(美国 waters 公司,型号:UPLC H-CLASS + QTOF G2-XS),配有电喷雾离子源(ESI),MassLynx V4.1 软件。

1.2 试剂

绞股蓝样品采自于黄山学院校园内,经黄山学院生命与环境科学学院翟大才副教授鉴定确认,凭证标本(标本号:HS20170828)存放于黄山学院分析测试中心。人参皂苷 Rb1、Rb3、Re、Rd 对照品均购自中国食品药品检定研究院,生产批号分别为 110704-201223、111686-201504、110754-201324 和 111818-201603;乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯,购自美国 Fisher 公司;纯水为 Milli-Q 系统纯化水(美国 Millipore 公司);其余试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备

新鲜绞股蓝样品,50 °C 下烘干,粉碎,过 3 号药筛备用。称取绞股蓝粉末 1 g,包入滤纸套,加入石油醚 100 mL,索氏提取 10 h 至石油醚提取液无色,取出滤纸套内绞股蓝样品,风干至石油醚全部挥发,得到去除色素和油脂的绞股蓝样品。

称取 0.5 g 去除色素和油脂的绞股蓝样品,用 30 mL 80% 的甲醇浸泡过夜,超声提取 60 min 后,提取液减压蒸干,残渣加水溶解,以水饱和正丁醇溶液萃取 2 次,每次 30 mL,合并萃取液,减压旋干,以色谱纯甲醇定容至 10 mL 容量瓶,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜即得。

2.2 对照品溶液的配制

分别精密称取人参皂苷 Rb1、Rb3、Re 和 Rd 对照品适量,加甲醇溶解,配制成浓度为 0.1 g/L 对照品溶液,供 LC-MS 分析。

2.3 色谱条件

色谱柱 waters acquity HSS T3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm);流速 0.3 mL/min;柱温 30 °C;进样量 1 μL;流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)和乙腈(B);梯度洗脱条件:0 ~ 2 min, 20% B;2 ~ 12 min, 20% ~ 28% B;12 ~ 14 min, 28% ~ 34% B;14 ~ 37 min, 34% ~ 70% B;37 ~ 42 min, 70% ~ 80% B。

2.4 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),正离子扫描模式;扫描范围 m/z 50 ~ 1 500;毛细管电压 3 kV;锥孔电压 40 V;离子源温度 120 °C;干燥气温度 550 °C;干燥气流量 900 L/h;碰撞电压 20 ~ 30 V。

2.5 绞股蓝中已知皂苷类物质数据库的建立

根据国内外专业数据库 ChemSpider 及相关研究文献,收集整理了绞股蓝中已报道皂苷类物质 147 个,包括化合物名称,化学式,精确质量,结构式等信息,建立绞股蓝中已知皂苷数据库。

3 结果与讨论

3.1 达玛烷型皂苷对照品质谱裂解规律

文献报道皂苷类物质液质分析一般采用 ESI 负离子模式^[14,19],本实验对比研究了绞股蓝中皂苷类成分在正、负离子模式下信号差异,结果表明正离子模式下总离子流信号明显强于负离子模式,且实验发现,在负离子模式下,即使碰撞能加到 60 ~ 70 V,绞股蓝皂苷母离子都很难碎裂,离子碎片信息很少,不利于结构的推断。而在正离子模式下,碰撞能 20 ~ 30 V,母离子即发生碎裂,离子碎片信息丰富,裂解规律性好,因此本实验选择正离子扫描模式。

按 2.3, 2.4 实验条件,将 4 个达玛烷型皂苷对照品溶液进液质分析,分别采集正离子模式下一级、

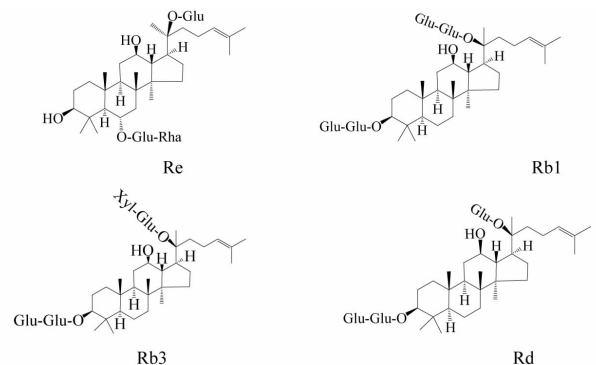


图 1 4 个达玛烷型皂苷对照品的化学结构

Fig. 1 Structures of 4 reference saponins with damane type structure

二级质谱。总结达玛烷型皂苷的裂解规律和特征碎片信息。4个达玛烷型皂苷对照品的结构式示于图1。

Re、Rb1、Rb3和Rd四种对照品的混标,在正离子模式下的总离子流图见图2,二级质谱图见图3。由图2可知,4种对照品在正离子模式下,分离良好,有明显的信号峰。再结合相同条件下单标进样,可以确定四种皂苷Re、Rb1、Rb3和Rd的保留时间分别为4.27、15.92、17.57、18.63 min。

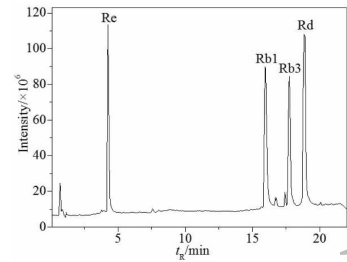


图2 对照品混合液总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of mixed reference substances

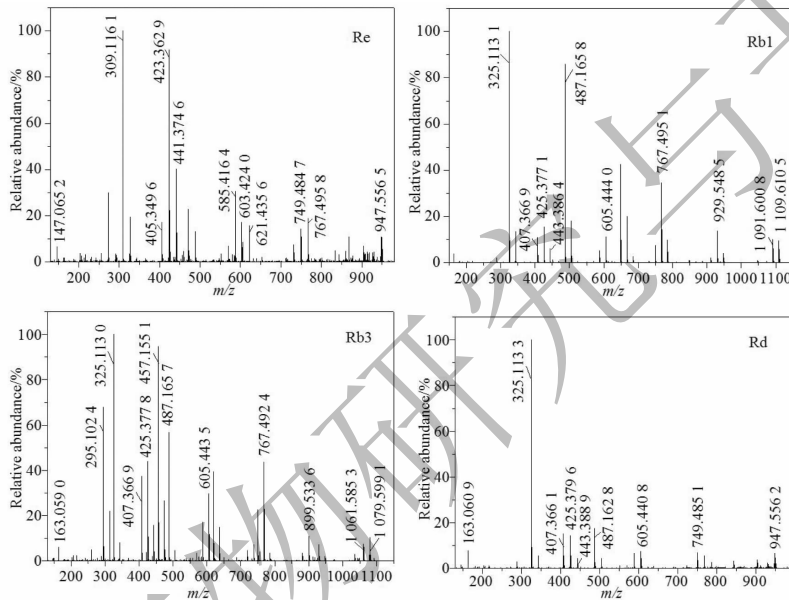


图3 Re、Rb1、Rb3和Rd在正离子模式下二级质谱图

Fig. 3 MSMS spectrums of Re, Rb, Rb3 and Rd in positive mode

人参皂苷Re,分子式 $C_{48}H_{82}O_{18}$, m/z 947.5565为Re的母离子峰 $[M+H]^+$,与理论值947.5579差-1.4 mDa。 m/z 767.4958为母离子失去一分子葡萄糖和一分子水后形成的碎片离子峰 $[M+H-Glu-H_2O]^+$, m/z 621.4356为母离子失去一分子葡萄糖、一分子鼠李糖和一分子水后形成的碎片离子峰 $[M+H-Glu-Rha-H_2O]^+$, m/z 441.3746为母离子失去两分子葡萄糖、一分子鼠李糖和两分子水后形成的碎片离子峰 $[M+H-2Glu-Rha-2H_2O]^+$, m/z 423.3629为母离子失去两分子葡萄糖、一分子鼠李糖和三分子水后形成的碎片离子峰 $[M+H-2Glu-Rha-3H_2O]^+$; m/z 309.1161为葡萄糖与鼠李糖相连糖的碎片离子峰 $[Glu-Rha+H]^+$; m/z 147.0652为鼠李糖的碎片离子峰 $[Rha+H]^+$ 。

人参皂苷Rb1,分子式 $C_{54}H_{92}O_{23}$,离子 m/z

1109.6105为皂苷Rb1的母离子峰 $[M+H]^+$,与理论值1109.6107差0.2 mDa。 m/z 1091.6008, 929.5485, 767.4951, 605.4440, 425.3771碎片离子分别对应 $[M+H-H_2O]^+$, $[M+H-Glu-H_2O]^+$, $[M+H-2Glu-H_2O]^+$, $[M+H-3Glu-H_2O]^+$, $[M+H-4Glu-2H_2O]^+$; m/z 325.1131为两个葡萄糖相连糖的碎片离子峰 $[Glu-Glu+H]^+$; m/z 163.0606为葡萄糖的碎片离子峰 $[Glu+H]^+$ 。

人参皂苷Rb3,分子式 $C_{53}H_{90}O_{22}$,离子 m/z 1079.5991为母离子峰 $[M+H]^+$,与理论值1079.6002差-1.1 mDa。 m/z 1061.5853, 899.5336, 767.4924, 605.4435, 425.3778碎片离子分别对应 $[M+H-H_2O]^+$, $[M+H-Glu-H_2O]^+$, $[M+H-Glu-Xyl-H_2O]^+$, $[M+H-2Glu-Xyl-H_2O]^+$, $[M+H-3Glu-$

Xyl-2H₂O]⁺。

人参皂苷 Rd, 分子式 C₄₈H₈₂O₁₈, 离子 *m/z* 947.556 2 为母离子峰 [M + H]⁺, 与理论值 947.557 9 差 -1.7 mDa。*m/z* 749.485 1, 605.440 8, 425.379 6 碎片离子分别对应 [M + H-Glu-2H₂O]⁺, [M + H-2Glu-H₂O]⁺, [M + H-3Glu-2H₂O]⁺。

综上所述, 达玛烷型皂苷因其苷元四环结构稳定, 在正离子模式下其裂解规律主要为糖苷键的断裂和苷元上羟基脱水, 产生的特征碎片分别为母离子失去 162 (葡萄糖: Glu), 146 (鼠李糖: Rha), 132 (木糖: Xyl) 或 18 (水: H₂O) 后形成的。

3.2 黄山野生绞股蓝中皂苷类物质分析鉴定

按照 2.3, 2.4 实验条件进样, 采集供试品溶液正离子模式下总离子流图, 示于图 4。绞股蓝中皂苷类成分在 ESI 正离子模式下获得了良好响应和分离。实验中采用 Masslynx 软件分析处理数据, 结合对照品裂解规律, 文献报道, ChemSpider 等数据库,

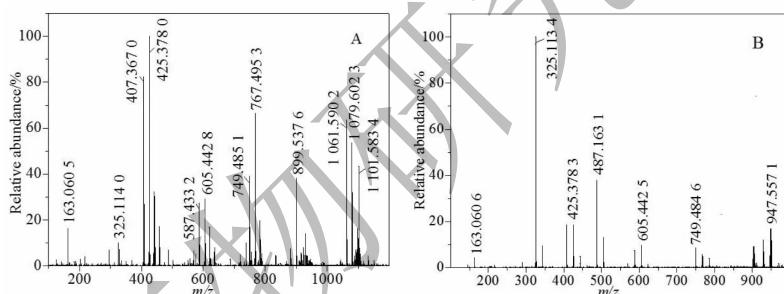


图 5 化合物 18 (A) 和 19 (B) 正离子模式下质谱图

Fig. 5 MSMS spectrums of compound 18 (A) and 19 (B) in positive mode

3.2.2 利用数据库鉴定已知皂苷类化合物

已知绞股蓝皂苷中含有多种同分异构体, 有些同分异构体能从质谱图中加以区分, 有些则很难区分。如化合物 22 (*t_R* = 21.91 min) 与 23 (*t_R* = 22.72 min) 具有相同特征离子峰和裂解规律 (见图 6), 分子离子峰均为 801.50 [M + H]⁺, 加合离子峰 *m/z* 823.49 [M + Na]⁺。推断二者为同分异构体, 计算元素组成为 C₄₂H₇₂O₁₄。俩化合物均具有相同的特征碎片峰, *m/z* 783.49 [M + H-H₂O]⁺; *m/z* 621.44 [M + H-H₂O-Glu]; *m/z* 441.37 [M + H-2H₂O-2Glu]⁺。区别: 对比俩质谱图, *m/z* 621.44 的丰度差别较大, 化合物 23 在 *m/z* 621.44 的丰度明显小于化合物 22, 说明化合物 22 更易失去一分子葡萄糖; 且化合物 23 有比较明显的 *m/z* 325.119 6 峰, 说

明化合物 23 的两个葡萄糖是相连的。有研究表明, 两个单糖链很容易失去一个糖, 而由两个糖形成的糖链失去一个糖不如失去两个糖稳定^[19]。结合文献, 比对数据库, 可推断化合物 22 为: 3-*O*-β-D-吡喃葡萄糖基 2α, 3β, 12β, 20 (S)-3 羟基-达玛烷 24-烯 20-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷, 化合物 23 为 Gypenoside LXXIV^[12], 其分子示意图示于图 7。

快速鉴定出供试品中含皂苷类物质 25 种, 结果见表 1, 以下举例说明各类皂苷物质鉴定过程。

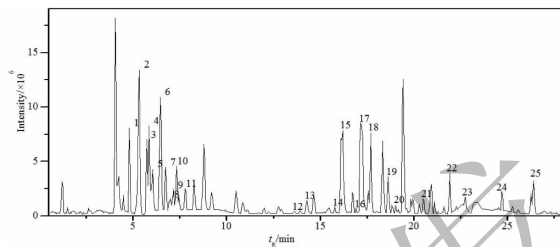


图 4 正离子模式下绞股蓝样品的总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatogram of extract from *Gynostemma pentaphyllum*

3.2.1 利用对照品鉴别化合物

化合物 18 (*t_R* = 17.55 min) 和 19 (*t_R* = 18.66 min) 经与对照品比对, 保留时间分别与对照品 Rb3 和 Rd 相一致, 且质谱图 (图 5) 中主要离子碎片及相对丰度也与对照品一致, 因此化合物 18 鉴定为 Rb3, 化合物 19 鉴定为 Rd。

明化合物 23 的两个葡萄糖是相连的。有研究表明, 两个单糖链很容易失去一个糖, 而由两个糖形成的糖链失去一个糖不如失去两个糖稳定^[19]。结合文献, 比对数据库, 可推断化合物 22 为: 3-*O*-β-D-吡喃葡萄糖基 2α, 3β, 12β, 20 (S)-3 羟基-达玛烷 24-烯 20-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷, 化合物 23 为 Gypenoside LXXIV^[12], 其分子示意图示于图 7。

化合物 14 (*t_R* = 15.80 min) 与 15 (*t_R* = 16.20 min) 具有相同特征离子峰和裂解规律 (见图 8), 均有相同的 *m/z* 1095.59 [M + H]⁺, *m/z* 1117.57 [M + Na]⁺, 推断二者为同分异构体, 计算元素组成为 C₅₃H₉₀O₂₃。俩化合物均具有相同质谱碎片峰, *m/z* 915.53 [M + H-H₂O-Glu]⁺, 783.48 [M + H-H₂O-Glu-Xyl]⁺, *m/z* 621.43 [M + H-H₂O-2Glu-Xyl]⁺,

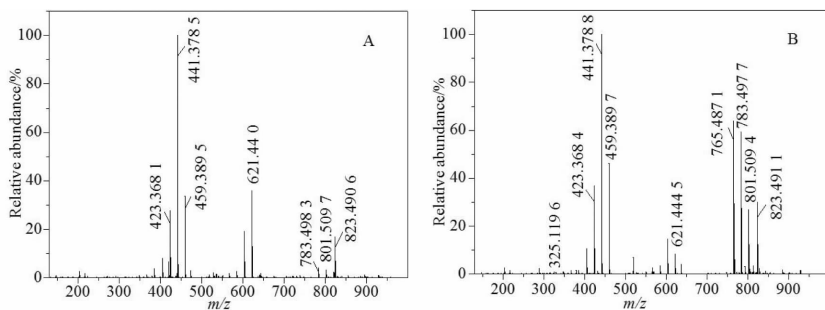


图6 化合物 22 (A) 和 23 (B) 正离子模式下二级质谱图

Fig. 6 MSMS spectra of compound 22 (A) and 23 (B) in positive mode

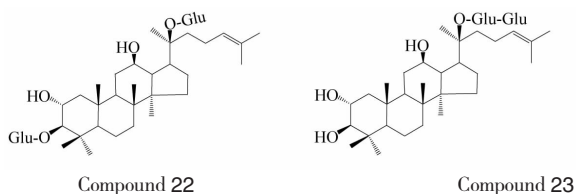


图7 化合物 22 和 23 结构示意图

Fig. 7 Structures of compound 22 and 23

m/z 441.37 $[M + H - 2H_2O - 3Glu - Xyl]^+$, m/z 163.05 $[Glu + H]^+$, m/z 295.10 $[Glu - Xyl + H]^+$ 。两化合物具有相同的特征碎片,且丰度基本一致,说明俩同分异构体取代基相同,只是取代基位置异构,对于此类同分异构体,质谱很难区别。结合文献^[9],比对数据库,可推断化合物 14 和 15 可能为 LXIX 或者 LXVII。依据此方法,共鉴定出 17 种已知绞股蓝皂苷,其中包含 4 对同分异构体。

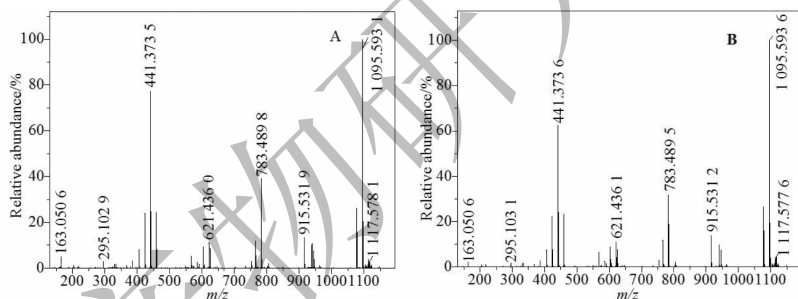


图8 化合物 14 (A) 和 15 (B) 正离子模式下二级质谱图

Fig. 8 MSMS spectra of compound 14 (A) and 15 (B) in positive mode

3.2.3 未知苷类化合物的鉴定

化合物 5、6、7 和 11 具有相同的分子离子峰 m/z 995.54 $[M + H]^+$, m/z 1017.53 $[M + Na]^+$, 这四种化合物为同分异构体,计算元素组成为 $C_{48}H_{82}O_{21}$ 。分析二级质谱碎片离子均有 m/z 815 $[M + H - H_2O - Glu]^+$, m/z 653 $[M + H - H_2O - 2Glu]^+$, m/z 455 $[M + H - 3H_2O - 3Glu]^+$,符合绞股蓝皂苷质谱裂解规律,比对绞股蓝皂苷数据库,数据库中未找到符合化合物。在线检索 ChemSpider 数据库得到化合物 (2 α , 3 β , 12 β , 23 E)-20-(β -D-Glucopyranosyloxy)-25-

hydroperoxy-2, 12-dihydroxydammar-23-en-3-yl 2- O - β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID:58859103),其结构与该化合物二级质谱特征碎片相符,据此推测化合物 5、6、7 和 11 为 ChemSpider ID:58859103 或其同分异构体。这是在绞股蓝中首次发现的化合物。同理可推断化合物 3 和 9 为 (3 β , 6 α , 12 β)-3- $\{[6-O-(D-Glucopyranosyl)-\beta$ -D-glucopyranosyl]oxy $\}$ -24-hydroperoxy-6, 12-dihydroxydammar-25-en-20-yl 6- O -L-arabinopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID:24641426) 或其同分异构体。

表1 黄山野生绞股蓝中皂苷类化合物的鉴定结果

Table 1 Identification results of saponins from wild *Gynostemma pentaphyllum* in Huangshan

编号 No.	t_R (min)	M + H 观测值 Observed (m/z)	化学式 Formula	偏差 Error (mD)	MSMS 特征碎片 Characteristic fragments (m/z)	鉴定结果 Identification result
1	4.79	1 111.589 1	$C_{53}H_{90}O_{24}$	-0.9	961 (1 111-132-18) 799 (1 111-132-162-18) 637 (1 111-132-162-162-18) 439 (1 111-132-162-162-162-18-18-18)	LXVIII
2	5.35	1 111.588 5	$C_{53}H_{90}O_{24}$	-1.5	961 (1 111-132-18) 799 (1 111-132-162-18) 637 (1 111-132-162-162-18) 439 (1 111-132-162-162-162-18-18-18)	LXI
3	5.75	1 127.585 5	$C_{53}H_{90}O_{25}$	0.6	947 (1 127-162-18) 815 (1 127-162-18-132) 653 (1 127-162-18-132-162) 473 (1 127-162-18-132-162-162-18)	(3 β , 6 α , 12 β)-3-[6-O-(D-Glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl] oxy }-24-hydroperoxy-6, 12-dihydroxydammar-25-en-20-yl 6-O-L-arabinopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID: 24641426) / Isomer
4	5.85	799.484 1	$C_{42}H_{70}O_{14}$	-0.3	637 (799-162) 619 (799-162-18) 475 (799-162-162) 439 (799-162-162-18-18)	XL 或 XXXIII
5	6.05	995.544 2	$C_{48}H_{82}O_{21}$	1.5	815 (995-18-162) 653 (995-18-162-162) 455 (995-18-162-162-162-18-18)	(2 α , 3 β , 12 β , 23E)-20-(β -D-Glucopyranosyloxy)-25-hydroperoxy-2, 12-dihydroxydammar-23-en-3-yl 2-O- β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID:58859103) / Isomer
6	6.46	995.543 8	$C_{48}H_{82}O_{21}$	1.1	815 (995-18-162) 653 (995-18-162-162) 455 (995-18-162-162-162-18-18)	(2 α , 3 β , 12 β , 23E)-20-(β -D-Glucopyranosyloxy)-25-hydroperoxy-2, 12-dihydroxydammar-23-en-3-yl 2-O- β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID:58859103) / Isomer
7	6.75	995.543 6	$C_{48}H_{82}O_{21}$	0.9	815 (995-18-162) 653 (995-18-162-162) 455 (995-18-162-162-162-18-18)	(2 α , 3 β , 12 β , 23E)-20-(β -D-Glucopyranosyloxy)-25-hydroperoxy-2, 12-dihydroxydammar-23-en-3-yl 2-O- β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID:58859103) / Isomer
8	7.01	1 093.614 2	$C_{54}H_{92}O_{22}$	-1.7	943 (1 093-18-132) 781 (1 093-18-132-162) 619 (1 093-18-132-162-162) 457 (1 093-18-132-162-162-162)	XXXV
9	7.16	1 127.586 3	$C_{53}H_{90}O_{25}$	1.4	947 (1 127-162-18) 815 (1 127-162-18-132) 653 (1 127-162-18-132-162) 473 (1 127-162-18-132-162-162-18)	(3 β , 6 α , 12 β)-3-[6-O-(D-Glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl] oxy }-24-hydroperoxy-6, 12-dihydroxydammar-25-en-20-yl 6-O-L-arabinopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID: 24641426) / Isomer
10	7.31	1 109.612 3	$C_{54}H_{92}O_{23}$	1.5	929 (1 109-162-18) 783 (1 109-162-146-18) 621 (1 109-162-146-162-18) 459 (1 109-162-146-162-162-18)	XLIII
11	7.77	995.543 7	$C_{48}H_{82}O_{21}$	1.0	815 (995-18-162) 653 (995-18-162-162) 455 (995-18-162-162-162-18-18)	(2 α , 3 β , 12 β , 23E)-20-(β -D-Glucopyranosyloxy)-25-hydroperoxy-2, 12-dihydroxydammar-23-en-3-yl 2-O- β -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside (ChemSpider ID:58859103) / Isomer

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	t_R (min)	M + H 观测值 Observed (m/z)	化学式 Formula	偏差 Error (mD)	MSMS 特征碎片 Characteristic fragments (m/z)	鉴定结果 Identification result
12	13.63	931.563 9	$C_{48}H_{82}O_{17}$	0.9	751 (931-18-162) 605 (931-18-162-146) 443 (931-18-162-146-162)	LXXIII
13	14.28	1 079.601 0	$C_{53}H_{90}O_{22}$	0.8	899 (1 079-162-18) 737 (1 079-162-18-162) 605 (1 079-162-18-162-132) 443 (1 079-162-18-162-132-162) 915 (1 095-162-18)	LXIII
14	15.80	1 095.593 1	$C_{53}H_{90}O_{23}$	-2.0	783 (1 095-162-132-18) 621 (1 095-162-132-18-162) 441 (1 095-162-132-18-162-162-18) 915 (1 095-162-18)	LXIX / LXVII
15	16.20	1 095.593 6	$C_{53}H_{90}O_{23}$	-1.5	783 (1 095-162-132-18) 621 (1 095-162-132-18-162) 441 (1 095-162-132-18-162-162-18) 945 (1 107-162)	LXIX / LXVII
16	17.11	1 107.596 5	$C_{54}H_{90}O_{23}$	1.4	783 (1 107-162-162) 621 (1 107-162-162-162) 459 (1 107-162-162-162-162)	1 ^[11]
17	17.22	963.551 4	$C_{48}H_{82}O_{19}$	-1.5	783 (963-18-162) 621 (963-18-162-162) 459 (963-18-162-162-162)	XLVI
18	17.55	1 079.598 5	$C_{53}H_{90}O_{22}$	-1.7	899 (1 079-162-18) 767 (1 079-162-18-132) 605 (1 079-162-18-162-132) 425 (1 079-162-18-162-132-162-18)	人参皂苷 Rb3
19	18.66	947.558 7	$C_{48}H_{82}O_{18}$	0.8	749 (947-18-162-18) 605 (947-18-162-162) 425 (947-18-162-162-162-18)	人参皂苷 Rd
20	19.03	917.511 5	$C_{46}H_{76}O_{18}$	0.5	737 (917-18-162) 605 (917-18-162-132) 443 (917-18-162-132-162)	LV
21	20.50	933.541 6	$C_{47}H_{80}O_{18}$	-0.7	753 (933-18-162) 621 (933-18-162-132) 441 (933-18-162-132-162-18)	LXIV
22	21.91	801.499 2	$C_{42}H_{72}O_{14}$	-0.8	621 (801-18-162) 441 (801-18-162-162-18)	LXXIV
23	22.72	801.498 9	$C_{42}H_{72}O_{14}$	-1.1	621 (801-18-162) 441 (801-18-162-162-18)	3- <i>O</i> - β -D-吡喃葡萄糖基 2 α ,3 β ,12 β ,20 (<i>S</i>)-3 羟基-达玛烷 24-烯 20- <i>O</i> - β -D-吡 喃葡萄糖苷
24	24.69	771.488 7	$C_{41}H_{70}O_{13}$	-0.8	591 (771-18-162) 459 (771-18-162-132)	Gynoside A
25	26.40	783.488 4	$C_{42}H_{70}O_{13}$	-1.1	621 (783-162) 441 (783-162-162-18)	XXVIII

4 结论

绞股蓝中皂苷类化合物均为达玛烷型皂苷,本研究首先分析了 4 个达玛烷型皂苷对照品的裂解规律和特征碎片离子,再依据其裂解规律和特征碎片离子,同时结合文献报道和数据库分析鉴定黄山野

生绞股蓝中皂苷类物质。本实验从黄山野生绞股蓝中共鉴定出 25 个皂苷类化合物,其中有 6 个化合物在该植物中属首次发现,研究可为黄山野生绞股蓝的开发利用提供理论基础。

本研究建立了 UPLC-Q-TOF-MS 技术快速分离、

鉴定绞股蓝中皂苷类化合物的分析方法,该方法能够在较短时间内完成皂苷类成分分离、鉴定工作,避免了从粗提物纯化才能鉴别的繁琐过程,为黄山野生绞股蓝药效物质基础及其作用机制研究提供了数据支撑。然而该方法也存在一定的局限性,对于一些同分异构体很难区分,还需要进一步结合核磁共振等技术进行分析。

参考文献

- 1 Editorial Committee of the Administration Bureau of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica (中华本草) [M]. Shanghai: Science & Technology Press, 2000.
- 2 Zhang XZ, Su GY, Xia XY, et al. Research progress in hypoglycemic effect of natural dammarane saponins [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2758-2763.
- 3 Shu B, Liu ZJ, Qian MZ. Effects of gypenosides on vascular smooth muscle cells phenotype in hyperlipidemic rats [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 217-223.
- 4 Zhang N, Song N, Cao HM, et al. Effect of gypenosides on the prevention and treatment of atherosclerosis by autophagosome [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 2112-2116.
- 5 Fan DD, Kuang YH, Xiang SX, et al. Research progress in chemical constituents and pharmacological activities of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2017, 52: 342-352.
- 6 Li L, Fan HY, Dai XT, et al. Advances in pharmacological effects of gypenosides [J]. J Jilin Med Coll (吉林医药学院学报), 2015, 36: 147-150.
- 7 Lu RM, Pan LW, Wei JH, et al. Chemical constituents of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2014, 45: 2757-2761.
- 8 Zhang Z, Li PJ, Yang Y, et al. The summarize of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb) Makino [J]. Food Res Dev (食品研究与开发), 2011, 32: 193-196.
- 9 Razmovski-Naumovski V, Huang THW, Tran VH, et al. Chemistry and pharmacology of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. Phytochemistry Reviews, 2005, 4: 197-219.
- 10 Yang F, Shi H, Zhang X, et al. Two novel anti-inflammatory 21-nordammarane saponins from tetraploid Jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*) [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61: 12646-12652.
- 11 Hu L, Chen Z, Xie Y. New triterpenoid saponins from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. J Nat Prod, 1996, 59: 1143-1145.
- 12 Liu X, Ye WC, Xiao WL, et al. Studies on chemical constituents of *Gynostemma Pentaphyllum* [J]. J Chin Pharm Univ (中国药科大学学报), 2003, 34(1): 23-26.
- 13 Xu ZL, Yang FQ, Xia ZN, et al. Chemical constituents of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1067-1069.
- 14 Guo YC, Ou YH, He MZ, et al. Identification of saponins in rhizomes of *Anemone davidii* by UPLC/Q-TOF-MS/MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2014, 45: 1378-1387.
- 15 Li W, Feng YL, Li TE, et al. Rapid analysis on flavonoids in *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr by UPLC-Q-TOF/MS couple with diagnostic ions [J]. J Chin Mass Spectr Soc (质谱学报), 2016, 37: 504-516.
- 16 Zhou YN, Zhao L, Zheng L, et al. Rapid identification of chemical constituents in *Salvia chinensis* by HPLC-TOF-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2013, 38: 4109-4112.
- 17 Zhu YX, Chen LL, Gong QR, et al. Identification of constituents in Suanzaoren tang by LC-Q-TOF-MS and LC-IT-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2014, 39: 457-465.
- 18 Wang Q, Lu ZW, Liu YH, et al. Rapid analysis on phenolic compounds in *Rheum palmatum* based on UPLC-Q-TOF / M^{SE} combined with diagnostic ions filter [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 1922-1931.
- 19 Zhao J, Qin ZX, Peng B, et al. Fragmentation pathway of ginsenosides in *Panaxnotoginseng* using electrospray ionization-quadrupole / time-of-flight mass spectrometer [J]. J Chin Mass Spectr Soc (质谱学报), 2017, 38: 97-108.