

# UHPLC-LTQ Orbitrap MS 快速鉴别 无患子果皮中部分苷及苷元成分

张 权<sup>1</sup>, 齐梦蝶<sup>1</sup>, 康 莹<sup>1</sup>, 王方方<sup>1</sup>, 曲继旭<sup>1</sup>, 孙志蓉<sup>1</sup>,  
郭有枝<sup>2</sup>, 王春国<sup>1</sup>, 刘 勇<sup>1</sup>

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 福建省源容生物科技有限公司, 福建 三明 354500)

**摘要:**建立了超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱组合式高分辨质谱(UHPLC-LTQ Orbitrap MS)联用技术整合多种数据采集、挖掘策略快速分析无患子果皮中苷类化合物;总结了无患子皂苷标准品的质谱裂解规律及特征碎片离子,用于无患子果皮中苷类成分的快速筛查和鉴别;探索了母离子列表(parent ion list, PIL)-MS<sup>2</sup>、PIL-MS<sup>3</sup>和高能碰撞(high energy collision dissociation, HCD)技术,用于无患子果皮中母核结构相近化合物的精细区分和鉴别;最后通过智能化的 *In silico* 策略(Mass Frontier 软件中的 FISH 和 MS Tree Match 技术)对无患子果皮中新的苷类成分进行高通量筛查,并用 HCD 碎裂模式验证其预测的可靠性。结果表明,在无患子果皮中共鉴别出 67 个苷类化合物,其中 38 个化合物被快速筛查和鉴别,18 个母核结构相近的化合物得以精细区分,11 个新成分被推测。该方法能够为无患子质量控制及药效学研究提供参考数据,有助于复杂中药成分的快速定性分析。

**关键词:**超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱组合式高分辨质谱(UHPLC-LTQ Orbitrap MS); 无患子; 苷类

中图分类号:O657.63 文献标志码:A 文章编号:1004-2997(2018)02-0224-16

doi:10.7538/zpzb.2017.0055

## Rapid Identification of Glycosides and Aglycones in Pericarp of *Sapindus mukorossi* Gaertn. Using UHPLC-LTQ Orbitrap MS

ZHANG Quan<sup>1</sup>, QI Meng-die<sup>1</sup>, KANG Ying<sup>1</sup>, WANG Fang-fang<sup>1</sup>, QU Ji-xu<sup>1</sup>,  
SUN Zhi-rong<sup>1</sup>, GUO You-zhi<sup>2</sup>, WANG Chun-guo<sup>1</sup>, LIU Yong<sup>1</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Fujian Yuanrong Biotechnology Co. Ltd., Sanming 354500, China)

**Abstract:** *Sapindus mukorossi* Gaertn. is a Chinese medicinal herb, which has been used for thousands of years in China. The extract of *sapindus* pericarp has strong surfactivity and biological activities, such as anti-inflammatory, antimicrobial, antitumor,

收稿日期:2017-03-22;修回日期:2017-06-14

基金项目:无患子日化系列产品开发研究(2016110031002702)资助

作者简介:张 权(1991—),男(汉族),河北人,硕士研究生,中药资源专业。E-mail: qzhang707@163.com

通信作者:王春国(1985—),男(汉族),山东人,实验师,从事药用植物亲缘学、中药质量与开发。E-mail: wangcg1119@126.com

刘 勇(1964—),男(汉族),浙江人,教授,从事药用植物亲缘学、中药质量与开发。E-mail: yliu0126@aliyun.com

网络出版时间:2018-01-20;网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20180119.1515.012.html

spermicidal, hepatoprotective and fungicidal activities. The major bioactive compounds of *Sapindus mukorossi* are saponins and sesquiterpene glycosides, which are natural non-ionic surfactants. The development of liquid chromatography coupled with mass spectrometry technology (LC/MS) provides a simple and rapid method for complex traditional Chinese medicine. LC/MS technology can not only reach the point of high separating capacity of chromatography but also be provided with high selectivity, sensitivity, relative molecular mass and structure information of mass spectrum. The application of this technique generally involves LC/MS data acquisition, data processing and structure identification. In this study, a method of ultra high performance liquid chromatography-linear ion trap/orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-LTQ Orbitrap MS) and a variety of data acquisition and mining strategy were provided for the pericarp of *Sapindus mukorossi*. The mass spectrum characterization of two kinds of saponins standards were optimized for rapid screening and qualitative identification of glycosides; explored PIL (parent ion list)-MS<sup>2</sup>, PIL-MS<sup>3</sup> and HCD (high energy collision dissociation) techniques for the identification of nucleus structurally similar compounds. Finally, high-throughput screening of new glycosides compounds was performed by using the intelligent *In silico* strategy (FISH and MS Tree Match in Mass Frontier software), and those new chemical compounds were validated by HCD fragmentation model. Total of 67 glycosides were identified in the pericarp of *Sapindus mukorossi*, and 38 compounds were quickly screened and identified, 8 compounds with similar nucleolus structures were distinguished, 11 new components were inferred in the plant. This method can provide reference data for the study of *Sapindus mukorossi* quality control and pharmacodynamics development, and also can provide valuable reference for rapid qualitative analysis of complex traditional Chinese medicine.

**Key words:** ultra high performance liquid chromatography-linear ion trap/Orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-LTQ Orbitrap MS); *Sapindus mukorossi*; glycosides

无患子(*Sapindus mukorossi* Gaertn.)为无患子科(Sapindaceae)无患子属(*Sapindus*)的一种落叶乔木植物<sup>[1]</sup>。无患子具有一定的文化渊源,如无患子果实,又名菩提子,即最早记载的念珠<sup>[2]</sup>。无患子果皮被认为是一种绿色天然的洗涤用品,自古以来人们就有用无患子果皮浸泡液洗发、沐浴、洗衣服的传统,称其为“肥皂树”、“洗手果树”<sup>[3-4]</sup>。此外,无患子果皮还具有抗菌、抗肿瘤、保肝、抗血小板聚集、抗溃疡、镇痛以及抑制胰脂肪酶等多种药理活性<sup>[5]</sup>。通过对无患子属植物不同部位进行分离鉴定,现已确定了70余种化合物,主要为苷类成分。根据母核官能团特点,可将这些成分归为常春藤型、齐墩果酸型、甘遂烷型、达玛烷型三萜皂苷和倍半萜苷,其结构示于图1。

LC/MS以其高灵敏度、高专属性、分析快速等特点,已成为复杂中药化学成分快速鉴别的主要技术之一<sup>[6-10]</sup>。国内外对无患子果皮的成分鉴别已有相关报道,如李锐等<sup>[11]</sup>通过串联质谱分析,在无患子果皮中鉴定了12种苷类成分;王小淳等<sup>[12]</sup>运用LC/MS分析发现了数个未见报道的苷类成分。但是,目前对无患子果皮成分的特征多采用低分辨质谱,缺乏高分辨质谱的碎裂信息,以及相近母核类型和复杂成分普遍存在等因素,难以实现复杂成分鉴别和精细结构区分。高分辨率、高精度( $<1 \times 10^{-6}$ )和多级碎片信息是质谱鉴定化合物的必要条件。LTQ Orbitrap MS是将线性离子阱质谱和高分辨质谱结合的杂交型质谱仪,同时具有离子阱质谱的多级碎裂和Orbitrap的高分辨能

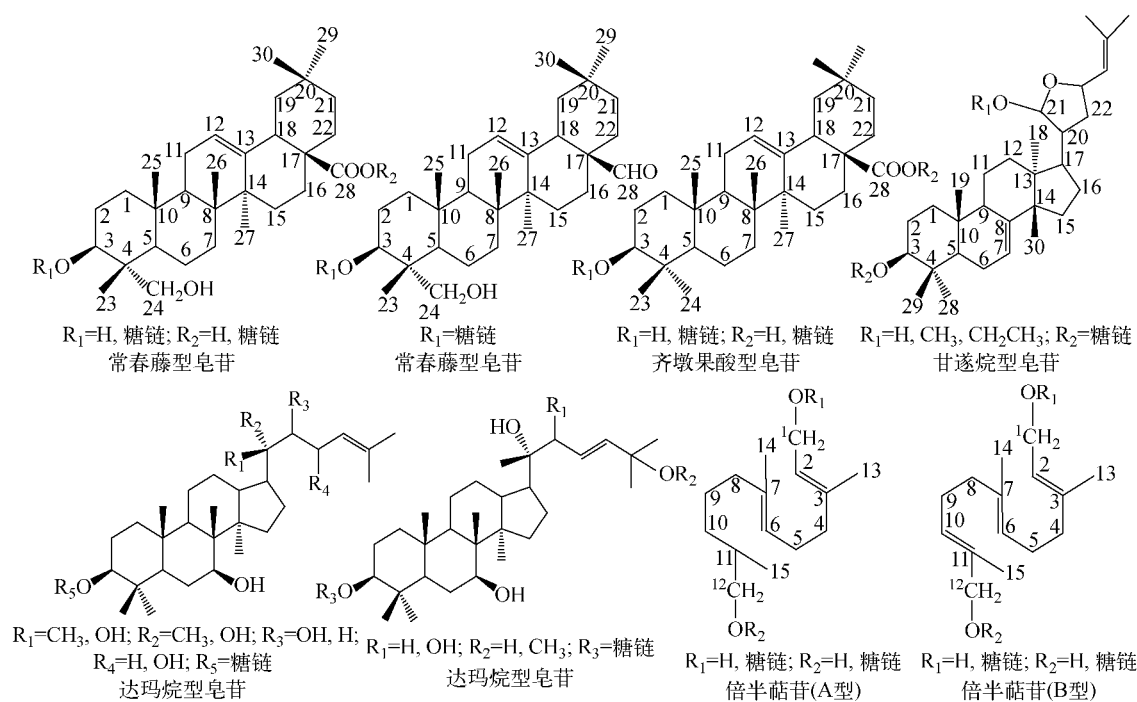


图 1 无患子属植物苷类成分的主要结构类型

Fig. 1 Structure types of glycosides in *Sapindus*

力,有助于实现常规化合物的鉴定和复杂成分的定性分析<sup>[13-14]</sup>。多级质谱( $MS^n$ )数据多采用数据依赖性采集技术(data-dependent acquisition, DDA),即将一级全扫描得到的母离子信号进行选择、分离并碎裂成更小的碎片离子,再进行二级扫描,以此类推,获得相互关联的 $MS^n$ 多级碎片信息<sup>[15]</sup>。但是,常规的数据依赖性采集技术更倾向于采集和检测高丰度的离子,对于复杂成分组来说,大量目标组分无法检测到二级碎片信息,而母离子列表(parent ion list, PIL)采集技术能够选择特定母离子进行 $MS^n$ 分析,提高了扫描速度,在一定程度上克服了低丰度目标组分难以检测多级碎片的难题<sup>[16]</sup>。另外,对于常规的裂解模式CID(collison induced dissociation),质谱分析会出现低质量碎片缺失效应,造成母核结构相近化合物无法进行精细结构深入区分的困境;而高能碰撞(high energy collision dissociation, HCD)碎裂模式,母离子通过HCD进行碎裂,然后子离子在Orbitrap中进行高分辨和高精度的二级扫描,该碎裂模式提高了碎裂效率,实现了对低质量碎片信息的检测,同时提供了精确质量数的碎片离子<sup>[17-18]</sup>。此外,对海量质谱数据

的分析和深入挖掘,耗费了大量的人工精力,而质谱数据的计算机智能计算(*In silico*)技术正成为未来中药小分子质谱数据深度挖掘的主要手段之一。Mass Frontier是一款最新的用于小分子结构鉴定的质谱软件,如其中的Fragment Ion Search(FISH)模块可以将碎裂规则或诊断离子导入软件进行高通量筛查,得到的化合物被认为是与目标化合物具有相似的母核和碎裂规则;MS Tree Match是一种谱图比对技术,通过软件内置或用户自建数据库对相同水平( $MS^n$ )、具有相同母离子 $m/z$ 的相应质谱图进行谱图匹配,软件自动给出1~999的匹配值用于化合物数据库的快速筛查。

本研究拟采用UHPLC-LTQ-Orbitrap MS技术对无患子果皮中苷类成分进行快速筛查和鉴定,并且区分母核结构相近的化合物,预测可能存在的新成分,以形成一套较为完整的成分表征策略。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

LTQ-Orbitrap XL线性离子阱-串联静电场轨道阱质谱仪:美国Thermo Scientific公司

产品,配有热喷雾离子源(HESI)、Xcalibur 2.1 化学工作站;Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 UHPLC Plus Focused 超高效液相色谱系统;美国 Thermo Scientific 公司产品,配有二元梯度泵、自动进样器、柱温箱、二级管阵列(DAD)检测器;Chromeleon 7 工作站;美国 Thermo Scientific 公司产品;Millipore Synergy UV 型超纯水机;美国 Millipore 公司产品;R200D 型电子分析天平(十万分之一);德国 Sartorius 公司产品。

常春藤皂苷元(批号 HA0820KA14,纯度 $\geq 98\%$ )、齐墩果酸(批号 K01016CA14,纯度 $\geq 98\%$ )对照品:均购自上海源叶生物科技有限公司;水为超纯水;甲醇、乙腈:均为质谱级,美国 Fisher Scientific 公司产品;其余试剂均为分析纯;无患子果:采自福建建宁,经北京中医药大学资源系孙志蓉教授鉴定原植物为无患子 *Sapindus mukorossi* Gaertn.。

### 1.2 标准品溶液的配制

精确称取 1.02 mg 常春藤皂苷元和 1.04 mg 齐墩果酸,分别置于 2 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 0.51 g/L 常春藤皂苷元和 0.52 g/L 齐墩果酸标准液,过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,备用。

### 1.3 供试品溶液的配制

将无患子果皮烘干、粉碎,称取 50 g 果皮粉末,加入 250 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ,60  $^\circ\text{C}$  回流提取 3 次,每次分别为 3、2、2 h,合并、浓缩,定容至 100 mL 容量瓶中。AB-8 大孔树脂富集,上样量 50 mL,径高比 1:10,流速 1 mL/min,水洗脱至 molish 反应呈阴性,然后用 95% 乙醇洗脱,流速 1 mL/min,至大孔树脂柱无色,收集 95% 乙醇洗脱液,减压浓缩至无醇味,-80  $^\circ\text{C}$  冰冻 12 h,冷冻干燥 48 h,得 6.7 g 皂苷粉末,得率为 26.8%。取 0.115 00 g 皂苷粉末,溶于 10 mL 甲醇中,过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,即得供试品溶液。

### 1.4 实验条件

**1.4.1 色谱条件** 色谱柱:Waters Acquity UPLC BEH-C18 柱(2.1 mm $\times$ 50 mm $\times$ 1.7  $\mu\text{m}$ );流动相:A 为乙腈,B 为 0.1% 甲酸水溶液;洗脱程序:0~2 min(5%~32% A),2~14 min(32%~36% A),14~15 min(36%~40% A),15~25 min(40%~50% A),25~28 min

(50%~80% A),28~28.1 min(80%~5% A),28.1~32 min(5% A);流速 0.4 mL/min;柱温 30  $^\circ\text{C}$ ;DAD 检测波长 210 nm;进样量 4  $\mu\text{L}$ 。

**1.4.2 质谱条件** HESI 离子源,负离子检测模式,离子源温度 350  $^\circ\text{C}$ ,电离源电压 4 kV,毛细管电压 35 V,管透镜电压 110 V,鞘气和辅助气均为高纯氮气(纯度 $> 99.99\%$ ),鞘气流速 40 L/h,辅助气流速 20 L/h;采用傅里叶变换高分辨全扫描方式(TF, Full scan,分辨率 30 000)数据依赖性 DDA- $\text{MS}^2$ ;母离子列表 PIL- $\text{MS}^2$  和 PIL- $\text{MS}^3$ ;运用 CID 和 HCD 相结合的碎裂方式等多种策略。

### 1.5 数据处理

运用 HighChem Mass Frontier 7.0 软件对成分进行解析,其搜索、解析途径分为两种:一是构建无患子属植物苷类成分的特征碎片模板,在 FISH Filter 中进行相似结构高通量搜索;二是构建离子树(MS tree)数据库,总结已鉴定化合物的裂解信息,以 MS tree 的形式录入数据库,进行 MS Tree Match 的高通量匹配,以 Match 得分大于 400 作为匹配阈值。

## 2 结果与讨论

本研究运用 UHPLC-LTQ Orbitrap MS 技术整合多种数据采集、挖掘策略,对无患子果皮中的苷类成分进行系统研究,共鉴别出 67 个化合物。首先,采用常规的 DDA- $\text{MS}^2$  采集方法,根据常春藤皂苷元、齐墩果酸等标准品的裂解规律和特征碎片进行快速筛查,结合精确分子质量和相关文献<sup>[19-38]</sup>,共鉴别出 38 种化合物;采用 PIL- $\text{MS}^2$ ,PIL- $\text{MS}^3$  和 HCD 高能碰撞采集方法,实现了 18 个母核结构相近化合物的精细区分和结构鉴别;采用 Mass Frontier 软件进行数据库对比和质谱碎片预测,共推测出 11 种新成分。

### 2.1 齐墩果酸型和常春藤型皂苷标准品的质谱裂解规律

在 LTQ-Orbitrap MS 中(分辨率 30 000),齐墩果酸的准分子离子峰为  $m/z$  455.351 97  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,选择母离子进行 CID 裂解,在二级质谱图中出现  $m/z$  409、407、391、375、297、247、219 等特征碎片离子。其中,碎片离子  $m/z$  409 是由于  $\text{C}_{28}$  位脱羧反应,母核失去 1 分子甲

酸形成的,  $C_{21}$  和  $C_{22}$  位进一步失去氢, 形成共轭结构的稳定碎片离子  $m/z$  407; 碎片离子  $m/z$  409 中性丢失 1 分子  $H_2O$  形成  $m/z$  391;  $C_{24}$  位角甲基不稳定进一步丢失 1 分子  $CH_4$  形成碎片离子  $m/z$  375; 碎片离子  $m/z$  247 是由齐墩果酸发生逆狄尔斯-阿尔德(RDA)反应形成的,  $m/z$  247 的  $C_{28}$  位进一步中性丢失 1 分子 CO 形成  $m/z$  219 碎片离子<sup>[19]</sup>。齐墩果酸二级质谱图和可能的裂解途径示于图 2a 和图 3。

常春藤皂苷元的准分子离子峰为  $m/z$  471.346 88, 选择母离子进行 CID 裂解, 在二级质谱图中出现  $m/z$  425、405、393、377、347、203 等特征碎片离子。其中, 碎片离子  $m/z$  453 是母核丢失 1 分子  $H_2O$  形成的,  $m/z$  453 中  $C_{28}$

位丢失 1 分子 CO 及  $C_4$  位脱  $CH_4O$  后, 分别形成  $m/z$  425 和  $m/z$  393 碎片离子。其中,  $m/z$  393 脱去  $CH_4$  后形成  $m/z$  377, 进一步丢失 2 分子角甲基后形成  $m/z$  347,  $m/z$  377 发生逆狄尔斯-阿尔德裂解后形成  $m/z$  203 等碎片离子<sup>[6,19,20]</sup>。常春藤皂苷元二级质谱图和可能的裂解途径示于图 2b 和图 4。

常春藤型和齐墩果酸型三萜皂苷的结构多样且复杂, 主要体现在糖链的数目和键合的位置, 单糖的种类、数目以及连接顺序、位点, 乙酰基的数目以及键合位置的不同。根据以上裂解规律和母核特点, 发现  $m/z$  471、393 碎片离子和  $m/z$  455、407 碎片离子可以作为区分两种类型三萜皂苷的特征碎片离子。

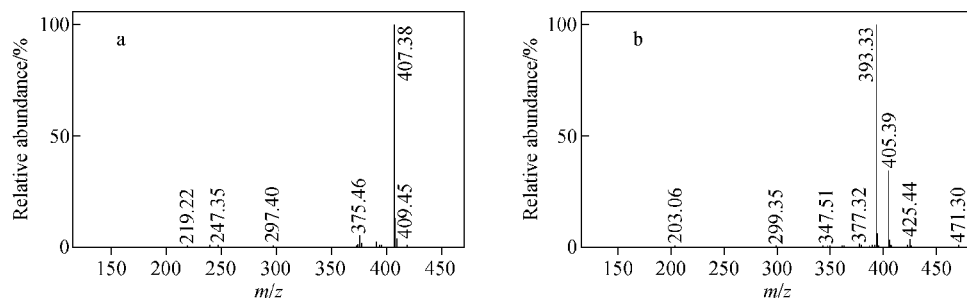


图 2 负离子模式下, 齐墩果酸(a)和常春藤皂苷元(b)的二级质谱图

Fig. 2 MS<sup>2</sup> spectra of oleanolic acid (a) and hederagenin (b) at negative ion mode

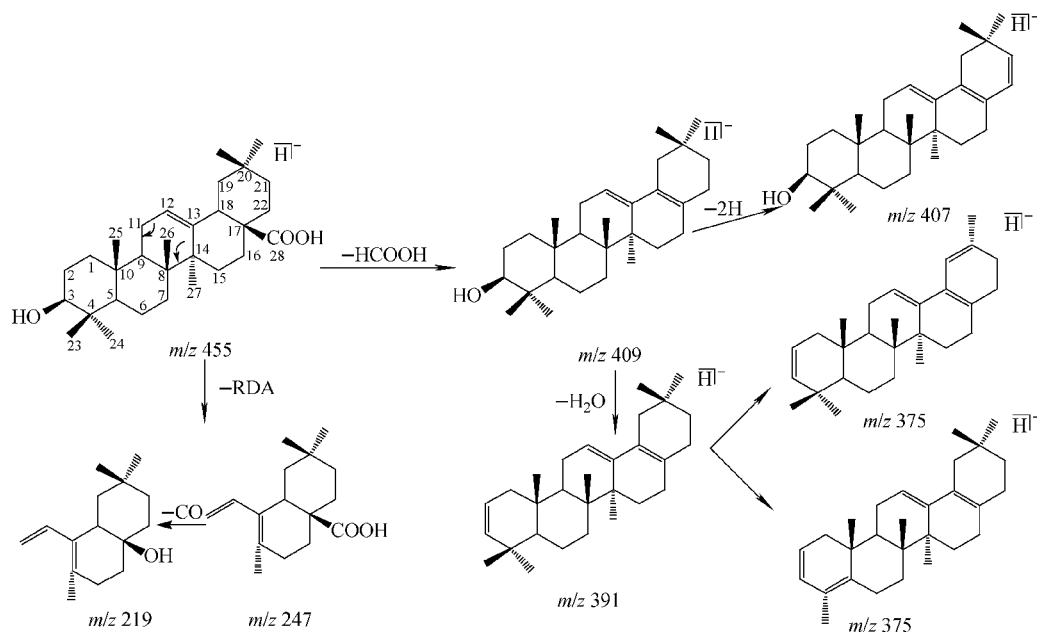


图 3 负离子模式下, 齐墩果酸的质谱裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathways of oleanolic acid at negative ion mode

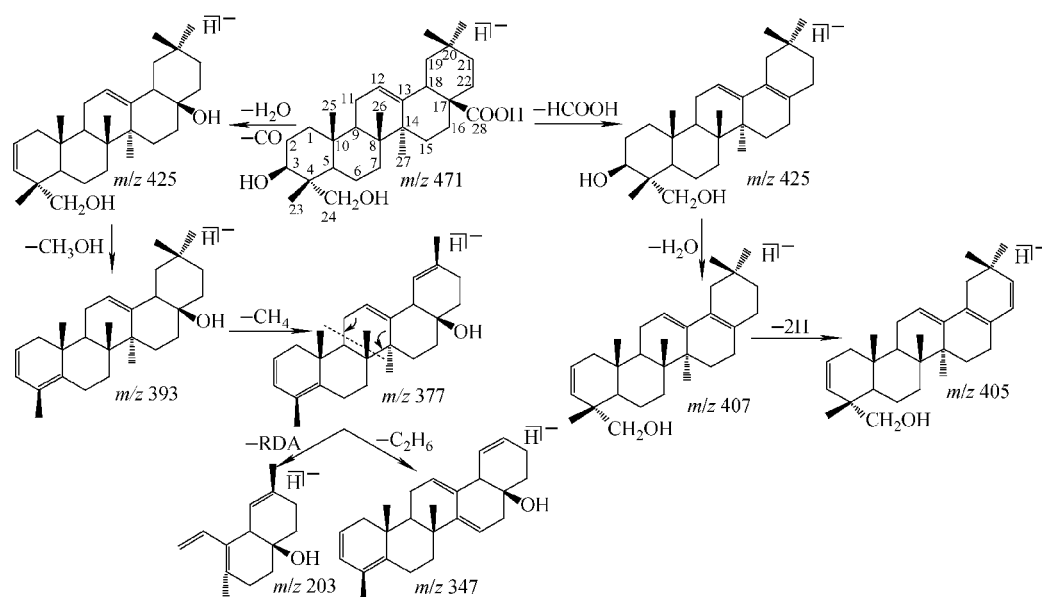


图4 负离子模式下,常春藤皂苷元的裂解途径

Fig. 4 Fragmentation pathways of hederagenin at negative ion mode

## 2.2 无患子果皮中皂苷类成分的快速筛查和鉴别

**2.2.1 常春藤型和齐墩果酸型的快速筛查和鉴别** 运用 LTQ-Orbitrap MS 仪,采用常规 DDA-MS<sup>2</sup> 数据采集方法,结合高分辨质谱精确分子质量,根据常春藤型皂苷元  $m/z$  471、393,齐墩果酸  $m/z$  455、407 等特征碎片,对无患子果皮中三萜皂苷类成分进行快速筛查和鉴别,共鉴别了 16 种常春藤型三萜皂苷,2 种齐墩果酸型三萜皂苷,结果列于表 1(化合物 1~18)。

**2.2.2 达玛烷型皂苷类成分的快速筛查和鉴别** 无患子果皮中达玛烷型三萜皂苷的结构多样性体现在母核官能团种类和键合位置的不同,以及糖链的差异<sup>[21-22]</sup>。根据其母核特点,常以达玛烷皂苷苷元碎片离子  $m/z$  505、492、489、475、459 等作为区分达玛烷型三萜皂苷的特征碎片离子<sup>[23]</sup>,据此对无患子果皮中该类成分进行快速筛查和鉴别,共鉴别了 5 种达玛烷型皂苷类成分,结果列于表 1(化合物 19~23)。

### 2.2.3 倍半萜苷类成分的快速筛查和鉴别

无患子倍半萜糖苷类化合物的基本骨架主要分为羟基邻位 C<sub>11</sub> 上有氢的 A 型倍半萜苷和羟基邻位 C<sub>11</sub> 上没有氢而形成双键的 B 型倍半萜苷两类。它们在软电离状态下均产生一系列糖苷键丢失的碎片离子,最后脱去 1 分子葡萄

糖和 1 分子水<sup>[19]</sup>,其特征碎片离子为  $m/z$  531、529、401、399 等。本研究以此作为诊断离子对无患子果皮中倍半萜苷进行快速筛查和鉴别,共鉴别了 12 种 A 型倍半萜苷类成分,5 种 B 型倍半萜苷类成分,结果列于表 1(化合物 24~38)。

以倍半萜糖苷化合物 34 为例,说明其鉴别过程:

化合物 34 在总离子流图(TIC)的保留时间为 4.97 min,高分辨质谱中显示的精确准分子离子峰为  $m/z$  677.337 59[M-H]<sup>-</sup>,根据元素组成分析,该化合物的分子式为 C<sub>50</sub>H<sub>84</sub>O<sub>28</sub>(质量偏差为  $-0.44 \times 10^{-6}$ )。在 CID 裂解下,MS<sup>2</sup> 图谱中产生了  $m/z$  545、531、399、307、247 等碎片离子。 $m/z$  545 的 C<sub>8</sub> 和 C<sub>12</sub> 位中性丢失 1 分子 H<sub>2</sub>O,形成五元环结构,其相连的葡萄糖基进一步发生六元环上的跨环开裂,丢失 C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> 形成  $m/z$  307 碎片离子, $m/z$  307 进一步失去 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>,形成  $m/z$  247 碎片离子<sup>[6,19]</sup>。上述碎片离子具体归属为: $m/z$  545[M-H-Ara]<sup>-</sup>, $m/z$  531[M-H-Rha]<sup>-</sup>, $m/z$  399[M-H-Rha-Ara]<sup>-</sup>, $m/z$  307[M-H-H<sub>2</sub>O-Rha-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, $m/z$  247[M-H-H<sub>2</sub>O-Rha-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>。结合相关文献<sup>[24]</sup>,化合物 34 鉴别为 Pyishiauside II b,其二级质谱图和可能的裂解途径分别示于图 5 和图 6。

表 1 UHPLC-LTQ Orbitrap MS 鉴别无患子苷类成分  
 Table 1 Structure identification of glycosides components from *Sapindus mukorossi* by UHPLC-LTQ Orbitrap MS

| 序号<br>No. | 保留时间<br>$t_R$ /min | 分子式<br>Molecular<br>formula                     | 实测分子质量                    |                             | 质量误差<br>Mass accuracy<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 二级碎片   |  | 鉴别<br>Identification | 参考文献<br>References |
|-----------|--------------------|---|---------------------------|-----------------------------|---|--|--|----------------------|--------------------|
|           |                    |   | Observed<br>mass( $m/z$ ) | Calculated<br>mass( $m/z$ ) |   | (-)-ESI-MS/MS( $m/z$ )   |  |                      |                    |
| 1         | 11.10              | C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub> | 923.49988                 | 923.49987                   | 0.01  | MS <sup>2</sup> : 881, 863, 749, 603, 471                          | Sapimmusaponin K/L, Rarasaponin II/III   | [21, 27]             |                    |
| 2         | 17.05              | C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub> | 923.50098                 | 923.49987                   | 1.20  | MS <sup>2</sup> : 881, 863, 837, 819, 749, 603, 559, 471           | Sapimmusaponin K/L, Rarasaponin II/III   | [21, 27]             |                    |
| 3         | 17.66              | C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub> | 923.50238                 | 923.49987                   | 2.72  | MS <sup>2</sup> : 881, 863, 837, 749, 603, 559, 471                | Sapimmusaponin K/L, Rarasaponin II/III   | [21, 27]             |                    |
| 4         | 21.85              | C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub> | 923.50128                 | 923.49987                   | 1.53  | MS <sup>2</sup> : 881, 863, 749, 603, 471                          | Sapimmusaponin K/L, Rarasaponin II/III   | [21, 27]             |                    |
| 5         | 23.34              | C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub> | 923.50281                 | 923.49987                   | 3.18  | MS <sup>2</sup> : 881, 863, 749, 603, 471                          | Sapimmusaponin K/L, Rarasaponin II/III   | [21, 27]             |                    |
| 6         | 23.62              | C <sub>50</sub> H <sub>78</sub> O <sub>18</sub> | 965.51251                 | 965.51044                   | 2.14  | MS <sup>2</sup> : 923, 905, 881, 863, 845, 749, 645, 603, 585, 471 | Sapimmusaponin M/N, Rarasaponin VI, Mukurozisosaponin G  | [21, 25, 27, 29-30]  |                    |
| 7         | 24.76              | C <sub>50</sub> H <sub>78</sub> O <sub>18</sub> | 965.51190                 | 965.51044                   | 1.51  | MS <sup>2</sup> : 923, 905, 881, 863, 845, 749, 645, 603, 585, 471 | Sapimmusaponin M/N, Rarasaponin VI, Mukurozisosaponin G  | [21, 25, 27, 29-30]  |                    |
| 8         | 8.22               | C <sub>46</sub> H <sub>74</sub> O <sub>16</sub> | 881.48846                 | 881.48931                   | -0.96   | MS <sup>2</sup> : 749, 731, 603, 585, 471                          | Sapindoside B/C 及其同分异构体  | [21, 25, 27-31, 33]  |                    |
| 9         | 15.13              | C <sub>46</sub> H <sub>74</sub> O <sub>16</sub> | 881.49054                 | 881.48931                   | 1.40  | MS <sup>2</sup> : 837, 749, 705, 603, 559, 471                     | Sapindoside B/C 及其同分异构体  | [21, 25, 27-31, 33]  |                    |
| 10        | 17.22              | C <sub>46</sub> H <sub>74</sub> O <sub>16</sub> | 881.49011                 | 881.48931                   | 0.91  | MS <sup>2</sup> : 749, 731, 603, 585, 471                          | Sapindoside B/C 及其同分异构体  | [21, 25, 27-31, 33]  |                    |
| 11        | 17.42              | C <sub>46</sub> H <sub>74</sub> O <sub>16</sub> | 881.49048                 | 881.48931                   | 1.33  | MS <sup>2</sup> : 749, 731, 603, 585, 471                          | Sapindoside B/C 及其同分异构体  | [21, 25, 27-31, 33]  |                    |
| 12        | 23.63              | C <sub>46</sub> H <sub>74</sub> O <sub>16</sub> | 881.49146                 | 881.48931                   | 2.44  | MS <sup>2</sup> : 749, 735, 603, 537, 471                          | Sapindoside B/C 及其同分异构体  | [21, 25, 27-31, 33]  |                    |
| 13        | 19.52              | C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub> | 749.44843                 | 749.44705                   | 1.84  | MS <sup>2</sup> : 603, 585, 471, 423                               | Sapindoside A  | [27]                 |                    |
| 14        | 28.50              | C <sub>32</sub> H <sub>68</sub> O <sub>11</sub> | 747.46778                 | 747.46948                   | -2.27   | MS <sup>2</sup> : 601, 583, 437                                    | Raraoside A  | [27]                 |                    |
| 15        | 17.56              | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>  | 471.34869                 | 471.34688                   | 3.84  | MS <sup>2</sup> : 425, 405, 393                                    | Hederagenin  | [28]                 |                    |
| 16        | 20.75              | C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>  | 603.38916                 | 603.38914                   | 0.03  | MS <sup>2</sup> : 603, 471, 423, 393                               | Hederagenin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside   | [28-29]              |                    |
| 17        | 23.95              | C <sub>46</sub> H <sub>74</sub> O <sub>15</sub> | 865.49211                 | 865.49439                   | -2.63   | MS <sup>2</sup> : 733, 689, 587, 455, 407                          | Oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside | [29]                 |                    |



续表 1

| 序号<br>No. | 保留时间<br>$t_R$ /min | 分子式<br>Molecular<br>formula | 实测分子质量                    |               | 理论分子质量<br>Calculated<br>mass( $m/z$ ) | 质量误差<br>Mass accuracy<br>( $\times 10^{-6}$ )  | 二级碎片   |   | 鉴别<br>Identification | 参考文献<br>References |
|-----------|--------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------|---------------------------------------|--|--|---|----------------------|--------------------|
|           |                    |                             | Observed<br>mass( $m/z$ ) | mass( $m/z$ ) |                                       |  | (-)-ESI-MS/MS( $m/z$ )   |   |                      |                    |
| 32        | 6.67               | $C_{55}H_{92}O_{30}$        | 1231.55859                | 1231.55896    | -0.30                                 | $MS^2$ : 1189, 1171, 1147, 1129, 1111, 1085, 1043, 1025, 1001, 983, 965, 855, 675, 529 | $MS^2$ : 1189, 1171, 1147, 1129, 1111, 1085, 1043, 1025, 1001, 983, 965, 855, 675, 529 | 4", 4"-O-diacetylmukurozioside II a 或 Mukurozioside A 及其同分异构体 | [36, 38]             |                    |
| 33        | 8.81               | $C_{55}H_{92}O_{30}$        | 1231.56079                | 1231.55896    | 1.49                                  | $MS^2$ : 1189, 1171, 1147, 1129, 1111, 1085, 1043, 1025, 1001, 983, 965, 855, 675, 529 | $MS^2$ : 1189, 1171, 1147, 1129, 1111, 1085, 1043, 1025, 1001, 983, 965, 855, 675, 529 | 4", 4"-O-diacetylmukurozioside II a 或 Mukurozioside A 及其同分异构体 | [36, 38]             |                    |
| 34        | 4.97               | $C_{52}H_{84}O_{15}$        | 677.33759                 | 677.33789     | -0.44                                 | $MS^2$ : 545, 531, 399, 307, 247   | $MS^2$ : 545, 531, 399, 307, 247   | Pyishiauoside II b  | [32]                 |                    |
| 35        | 3.68               | $C_{45}H_{76}O_{24}$        | 999.46423                 | 999.46427     | -0.04                                 | $MS^2$ : 853, 835, 707, 673, 561, 399  | $MS^2$ : 853, 835, 707, 673, 561, 399  | Mukurozioside I b   | [27, 36]             |                    |
| 36        | 3.78               | $C_{51}H_{86}O_{28}$        | 1145.52161                | 1145.52218    | -0.50                                 | $MS^2$ : 999, 981, 853, 673, 707, 673, 545, 523, 399                                   | $MS^2$ : 999, 981, 853, 673, 707, 673, 545, 523, 399                                   | Mukurozioside II b  | [24-25, 27, 30]      |                    |
| 37        | 4.99               | $C_{33}H_{56}O_{15}$        | 691.35291                 | 691.35354     | -0.91                                 | $MS^2$ : 545, 399, 307, 247  | $MS^2$ : 545, 399, 307, 247  | Pyishiauoside I b   | [28]                 |                    |
| 38        | 3.72               | $C_{50}H_{84}O_{28}$        | 1131.50745                | 1131.50653    | 0.81                                  | $MS^2$ : 999, 985, 853, 707, 545, 399  | $MS^2$ : 999, 985, 853, 707, 545, 399  | Pyishiauoside IV b  | [28]                 |                    |
| 39        | 24.88              | $C_{52}H_{80}O_{19}$        | 1007.52264                | 1007.52100    | 1.63                                  | $MS^2$ : 965, 947, 923, 905, 887, 687, 645, 603, 585, 471                              | $MS^2$ : 965, 947, 923, 905, 887, 687, 645, 603, 585, 471                              | Rarasaponin IV 及其同分异构体  | [25]                 |                    |
| 40        | 25.67              | $C_{52}H_{80}O_{19}$        | 1007.52380                | 1007.52100    | 2.78                                  | $MS^2$ : 965, 947, 923, 887, 687, 645, 603, 471  | $MS^2$ : 965, 947, 923, 887, 687, 645, 603, 471  | Rarasaponin IV 及其同分异构体  | [25]                 |                    |
| 41        | 26.08              | $C_{52}H_{80}O_{19}$        | 1007.52246                | 1007.52100    | 1.45                                  | $MS^2$ : 965, 923, 905, 887, 687, 645, 603, 471  | $MS^2$ : 965, 923, 905, 887, 687, 645, 603, 471  | Rarasaponin IV 及其同分异构体  | [25]                 |                    |
| 42        | 6.35               | $C_{58}H_{94}O_{26}$        | 1205.59680                | 1205.59495    | 1.53                                  | $MS^2$ : 1085, 1043, 923, 881, 749, 603, 471   | $MS^2$ : 1085, 1043, 923, 881, 749, 603, 471   | Mukuroziosaponin Y1/Y2  | [6, 7, 27]           |                    |
| 43        | 6.38               | $C_{58}H_{94}O_{26}$        | 1205.59766                | 1205.59495    | 2.25                                  | $MS^2$ : 1085, 1043, 923, 881, 749, 603, 471   | $MS^2$ : 1085, 1043, 923, 881, 749, 603, 471   | Mukuroziosaponin Y1/Y2  | [6, 7, 27]           |                    |
| 44        | 24.51              | $C_{42}H_{68}O_{12}$        | 763.46216                 | 763.46270     | -0.71                                 | $MS^2$ : 719, 617, 599, 569, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339                               | $MS^2$ : 719, 617, 599, 569, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339                               | Sapimukoside B 及同分异构体   | [24]                 |                    |
| 45        | 26.15              | $C_{42}H_{68}O_{12}$        | 763.46204                 | 763.46270     | -0.86                                 | $MS^2$ : 745, 717, 617, 599, 455, 339  | $MS^2$ : 745, 717, 617, 599, 455, 339  | Sapimukoside B 及同分异构体   | [24]                 |                    |
| 46        | 28.24              | $C_{42}H_{68}O_{12}$        | 763.46448                 | 763.46270     | 2.33                                  | $MS^2$ : 617, 599, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339   | $MS^2$ : 617, 599, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339   | Sapimukoside B 及同分异构体   | [24]                 |                    |
| 47        | 22.59              | $C_{47}H_{76}O_{16}$        | 895.50244                 | 895.50496     | -2.81                                 | $MS^2$ : 763, 749, 617, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339                                    | $MS^2$ : 763, 749, 617, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339                                    | Sapimukoside A  | [24]                 |                    |
| 48        | 23.30              | $C_{47}H_{76}O_{16}$        | 895.50677                 | 895.50496     | 2.02                                  | $MS^2$ : 749, 715, 689, 587, 569, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339                          | $MS^2$ : 749, 715, 689, 587, 569, 455; $MS^3$ : 437, 373, 339                          | 四氢呋喃环甘遂烷-3-O-Ara/Xyl-O-Glc-O-Rha                              |                      |                    |

续表 1

| 序号<br>No. | 保留时间<br>$t_R$ /min | 分子式<br>Molecular<br>formula | 实测分子质量                    |               | 理论分子质量<br>Calculated<br>mass( $m/z$ ) | 质量误差<br>Mass accuracy<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 二级碎片   |   | 鉴别<br>Identification | 参考文献<br>References |
|-----------|--------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------|---------------------------------------|---|--|---|----------------------|--------------------|
|           |                    |                             | Observed<br>mass( $m/z$ ) | mass( $m/z$ ) |                                       |   | (-)-ESI-MS/MS( $m/z$ )   |   |                      |                    |
| 49        | 15.43              | $C_{49}H_{80}O_{16}$        | 969.54028                 | 969.54174     | 969.54174                             | -1.51   | $MS^2$ : 923; $MS^3$ : 879, 777, 733, 631, 613, 469                | Sapimunosaponin I/J sapimukoside C                | [34-35]              |                    |
| 50        | 28.04              | $C_{49}H_{80}O_{17}$        | 939.53117                 | 939.53180     | 939.53180                             | 0.67  | $MS^2$ : 793, 771, 495, 469  | Sapimunosaponin R                                 | [31]                 |                    |
| 51        | 22.18              | $C_{48}H_{78}O_{16}$        | 909.51648                 | 909.52061     | 909.52061                             | -4.54   | $MS^2$ : 763, 617, 455; $MS^3$ : 745, 617, 599, 537, 455, 437, 246 | Sapimukoside D 及其同分异构体                            | [35]                 |                    |
| 52        | 23.44              | $C_{48}H_{78}O_{16}$        | 909.51758                 | 909.52061     | 909.52061                             | -3.33   | $MS^2$ : 763, 617, 551, 455; $MS^3$ : 617, 599, 551, 455, 399      | Sapimukoside D 及其同分异构体                            | [35]                 |                    |
| 53        | 25.75              | $C_{48}H_{78}O_{16}$        | 909.51849                 | 909.52061     | 909.52061                             | -2.33   | $MS^2$ : 763, 745, 617, 599, 455; $MS^3$ : 617, 599, 455, 399      | Sapimukoside D 及其同分异构体                            | [35]                 |                    |
| 54        | 28.58              | $C_{64}H_{88}O_{20}$        | 1055.57852                | 1055.57921    | 1055.57921                            | -0.65   | $MS^2$ : 923, 791, 777, 645  | Sapimukoside E/F/I                                | [38]                 |                    |
| 55        | 27.85              | $C_{64}H_{88}O_{20}$        | 1055.57852                | 1055.57798    | 1055.57798                            | 0.51  | $MS^2$ : 923, 909, 777, 645  | Sapimukoside E/F/I                                | [38]                 |                    |
| 56        | 28.79              | $C_{48}H_{78}O_{12}$        | 823.48383                 | 823.48486     | 823.48486                             | -1.25   | $MS^2$ : 777; $MS^3$ : 745, 631, 375                               | Sapimunosaponin F/G/H                             | [34]                 |                    |
| 57        | 18.09              | $C_{47}H_{76}O_{17}$        | 911.49987                 | 911.50031     | 911.50031                             | 0.48  | $MS^2$ : 749, 731, 603, 585, 471, 423                              | Hederagenin-3-O-Ara/Xyl-O-Rha-O-Glc               |                      |                    |
| 58        | 9.35               | $C_{47}H_{76}O_{17}$        | 911.49987                 | 911.50110     | 911.50110                             | 1.35  | $MS^2$ : 779, 765, 747, 633, 615, 471                              | Hederagenin-3-O-Glc-O-Ara/Xly-O-Rha               |                      |                    |
| 59        | 16.01              | $C_{36}H_{58}O_9$           | 679.40625                 | 679.40518     | 679.40518                             | 1.57  | $MS^2$ : 633, 471  | Hederagenin-3-O-Glc                               |                      |                    |
| 60        | 26.08              | $C_{41}H_{66}O_{11}$        | 733.45374                 | 733.45213     | 733.45213                             | 2.20  | $MS^2$ : 587, 569, 455, 407  | Oleanolic acid-3-O-Ara/Xyl-O-Rha                  |                      |                    |
| 61        | 24.51              | $C_{43}H_{68}O_{13}$        | 791.45831                 | 791.45761     | 791.45761                             | 0.88  | $MS^2$ : 749, 731, 603, 585, 471, 423                              | Hederagenin-3-O-Ara/Xyl-O-Rha-OAc                 |                      |                    |
| 62        | 19.17              | $C_{49}H_{78}O_{18}$        | 953.51127                 | 953.51044     | 953.51044                             | 0.87  | $MS^2$ : 911, 893, 749, 603, 471                                   | Hederagenin-3-O-Ara/Xyl-O-Rha-O-Glc-OAc           |                      |                    |
| 63        | 18.88              | $C_{47}H_{76}O_{16}$        | 895.50702                 | 895.50496     | 895.50496                             | 2.30  | $MS^2$ : 749, 731, 603, 585, 471, 423                              | Hederagenin-3-O-Ara/Xyl-O-Rha-O-Rha               |                      |                    |
| 64        | 28.32              | $C_{42}H_{68}O_{11}$        | 793.47455                 | 793.47326     | 793.47326                             | 1.63  | $MS^2$ : 747, 705, 601, 455, 407                                   | Oleanolic acid-O-Rha-O-Rha                        |                      |                    |
| 65        | 21.73              | $C_{51}H_{82}O_{20}$        | 1013.53157                | 1013.52716    | 1013.52716                            | 4.35  | $MS^2$ : 881, 749, 735, 603, 471                                   | Hederagenin-3-O-Ara/Xyl-O-Rha-O-Xyl/Ara-O-Xyl/Ara |                      |                    |
| 66        | 22.71              | $C_{52}H_{84}O_{20}$        | 1027.54722                | 1027.54590    | 1027.54590                            | 1.28  | $MS^2$ : 895, 881, 749, 603, 471                                   | Hederagenin-3-O-Ara/Xyl-O-Rha-O-Rha-O-Ara/Xyl     |                      |                    |
| 67        | 24.93              | $C_{42}H_{68}O_{12}$        | 763.46270                 | 763.46375     | 763.46375                             | 0.63  | $MS^2$ : 617, 455, 407   | Oleanolic acid-3-O-Glc-O-Rha                      |                      |                    |

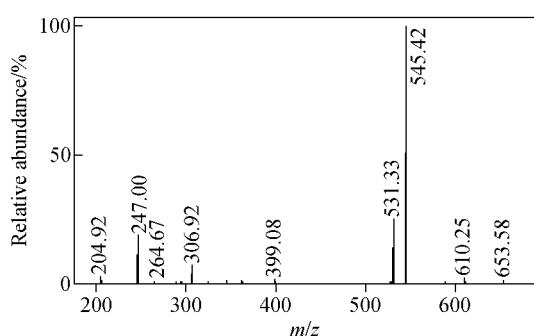


图5 化合物34的二级质谱图

Fig. 5 MS<sup>2</sup> spectrum of compound 34

### 2.3 母核结构相近化合物的精细区分和结构鉴别

**2.3.1 HCD 高能碰撞用于5种常春藤型皂苷的鉴别** 采用常规的数据依赖型数据采集 DDA-MS<sup>2</sup> 和源内 CID 裂解,发现一些分子质量较大的化合物裂解不完全,不能够提供准确的母核信息。以化合物39为例:在高分辨质谱中,保留时间为24.88 min,精确准分子离子峰为  $m/z$  1 007.522 64[M-H]<sup>-</sup>,根据元素组成分析,分子式为 C<sub>52</sub>H<sub>80</sub>O<sub>19</sub> (质量偏差为  $1.63 \times 10^{-6}$ )。经源内 CID 裂解后,在 MS<sup>2</sup> 中呈现  $m/z$  965、947、923、791、687、645、603、585等碎

片离子,示于图7a。其中, $m/z$  965 碎片离子为准分子离子  $m/z$  1 007 脱去乙酰基形成的,进一步脱去1分子 H<sub>2</sub>O,形成  $m/z$  947 碎片离子; $m/z$  965 丢失乙酰基形成  $m/z$  923 碎片离子;碎片离子  $m/z$  791 与  $m/z$  923 的质量数相差 132 u,提示存在阿拉伯糖或木糖;同理, $m/z$  645 与  $m/z$  791 相差 146 u,提示糖链中存在鼠李糖; $m/z$  687 可能是由于鼠李糖发生环内裂解,丢掉 -C<sub>4</sub>O<sub>3</sub>H 而产生<sup>[23]</sup>; $m/z$  645 进一步丢掉1分子乙酰基形成碎片离子  $m/z$  603,后者脱去1分子水形成  $m/z$  585 碎片离子。由此推测,化合物39为1分子鼠李糖或阿拉伯糖和1分子鼠李糖的化合物,但是,由于缺少母核的碎片信息,无法鉴别其为哪种类型的苷类成分。使用高能碰撞 HCD 进行裂解,更易获得难以裂解成分的多级质谱图,并显著改善 CID 裂解中产生的低质量碎片丢失效应<sup>[18]</sup>。如在 HCD 中出现  $m/z$  471 常春藤皂苷元诊断离子,示于图7b。结合文献<sup>[25]</sup>,鉴别化合物39为 Rarasaponin IV 及其同分异构体,可能的裂解途径示于图8。使用该策略对另外4种常春藤型皂苷的鉴别结果列于表1 (化合物40~43)。

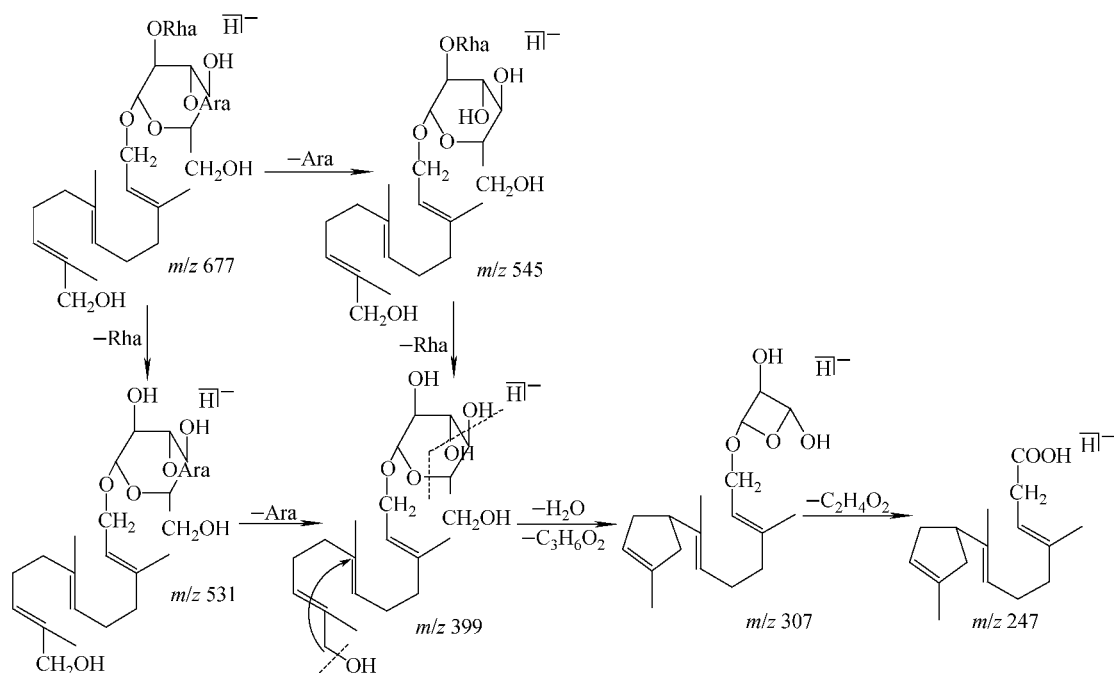
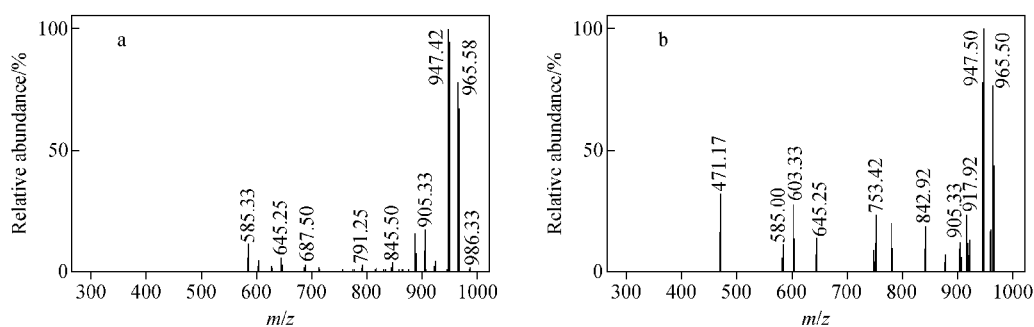


图6 化合物34的裂解途径

Fig. 6 Fragmentation pathways of compound 34



注: a. CID 裂解模式; b. HCD 裂解模式

图 7 化合物 39 的二级质谱图

Fig. 7 MS<sup>2</sup> spectra of compound 39

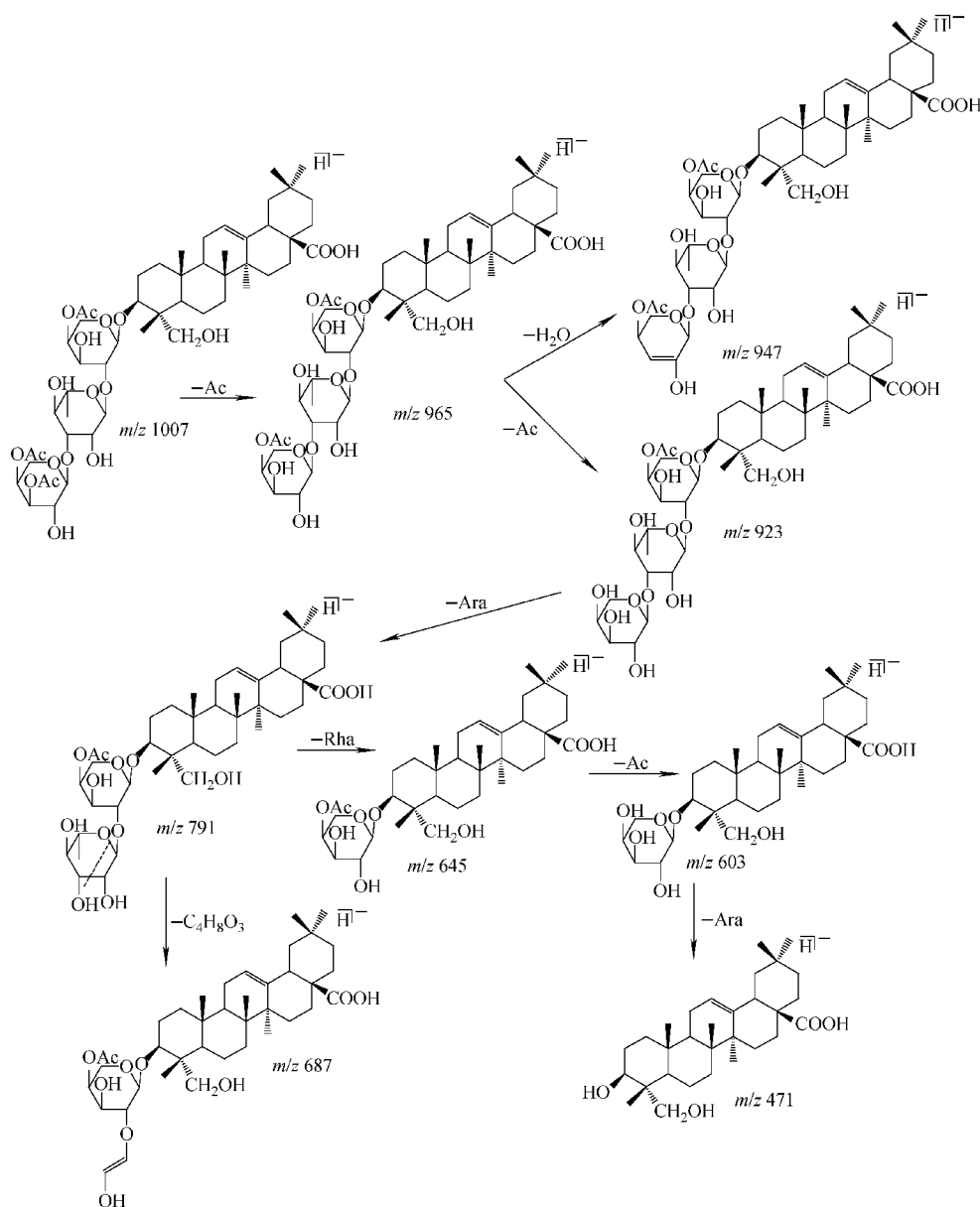


图 8 化合物 39 的裂解途径

Fig. 8 Fragmentation pathways of compound 39

**2.3.2 PIL-MS<sup>2</sup> 和 PIL-MS<sup>3</sup> 对 13 种甘遂烷型皂苷的鉴别** 四氢呋喃环甘遂烷型皂苷为无患子属植物特有的成分,其母核是由 C<sub>21</sub> 和 C<sub>23</sub> 通过醚键连接,C<sub>21</sub> 一般为取代基,末端有 4 个碳链连接在 C<sub>23</sub> 上<sup>[26]</sup>。鉴别此类化合物时,发现一些化合物没有二级信息,并且一些化合物的母核与齐墩果酸分子式相同,需要进一步的裂解信息以确保鉴别的准确性。针对这两个问题,本实验采用了 PIL-MS<sup>2</sup>,PIL-MS<sup>3</sup> 的采集策略,13 个甘遂烷型皂苷化合物得到了鉴别,结果列于表 1(化合物 44~56)。以化合物 44 为例:其在高分辨质谱中的保留时间为 24.51 min,显示的精确准分子离子峰为  $m/z$  763.462 16[M-H]<sup>-</sup>,根据元素组成分析,该化合物的分子式为 C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>O<sub>12</sub>。在 CID 裂解下,MS<sup>2</sup> 图谱中产生了与齐墩果酸质量数相同的  $m/z$  455

碎片离子,示于图 9a,但其丰度比五环三萜皂苷裂解所产生的齐墩果酸苷元离子丰度大得多。采用 PIL-MS<sup>2</sup>,PIL-MS<sup>3</sup> 的采集策略,发现其进一步裂解产生了  $m/z$  437、373、339 碎片离子,示于图 9b,与齐墩果酸裂解产生的  $m/z$  409、407、391 等特征碎片离子有本质区别。结合文献<sup>[24]</sup>,确定化合物 44 的二级图谱中  $m/z$  455 并非齐墩果酸苷元,而为甘遂烷三萜皂苷的母核。各碎片离子的归属为  $m/z$  617 [M-H-Rha]<sup>-</sup>,  $m/z$  599 [M-H-Rha-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>,  $m/z$  455 [M-H-Rha-Glc]<sup>-</sup>,  $m/z$  437 [M-H-Rha-Glc-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>,  $m/z$  373 [M-H-Rha-Glc-C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O]<sup>-</sup>,  $m/z$  339 [M-H-Rha-Glc-C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O-H<sub>2</sub>O-CH<sub>4</sub>]<sup>-</sup>。结合文献<sup>[24]</sup>,鉴别该化合物为 Sapimukoside B 或其同分异构体,可能的裂解途径示于图 10。

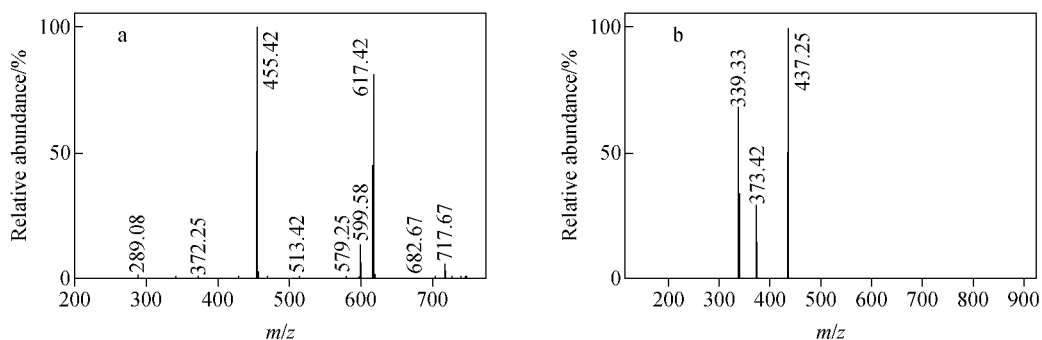


图 9 化合物 44 的二级(a)和三级(b)质谱图

Fig. 9 MS<sup>2</sup> (a), MS<sup>3</sup> (b) spectra of compound 44

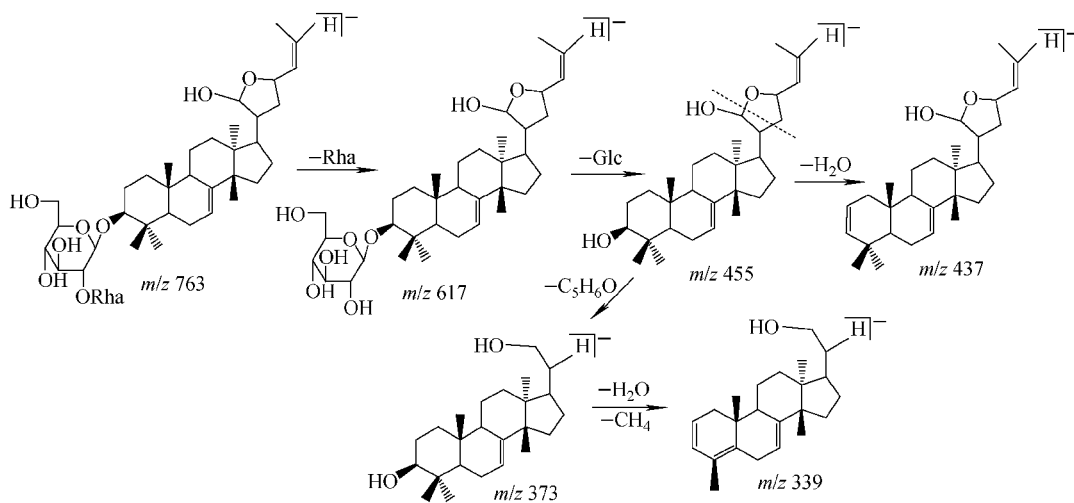


图 10 化合物 44 的裂解途径

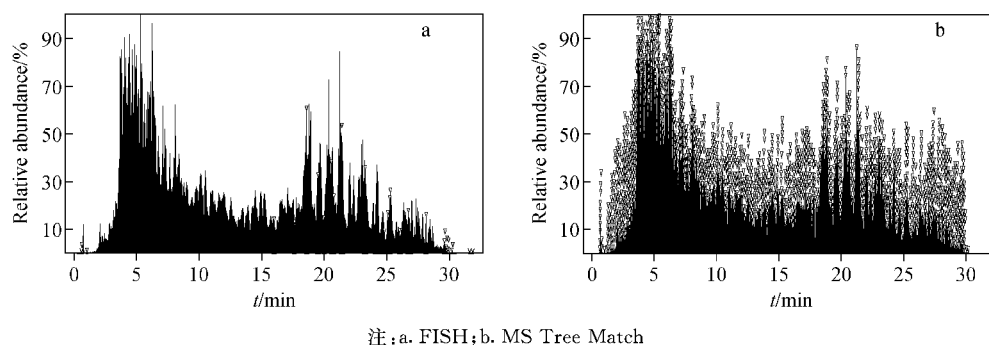
Fig. 10 Fragmentation pathways of compound 44

## 2.4 基于 *In silico* 的高通量筛查对无患子果皮中新成分的推测

相对于大分子如蛋白质组,中药小分子的质谱数据深度解析十分有限,如实验中获得的无患子果皮质谱二级谱图约 1 850 张,95% 以上的质谱数据无法得到解析。本研究主要整合了 Mass Frontier 的 FISH 和 MS Tree Match

技术,用于无患子果皮中未见报道成分的高通量筛查。

构建无患子果皮中三萜皂苷和倍半萜糖苷类成分的特征碎片模板,进行 FISH 高通量筛查,共筛选出 30 个目标化合物,示于图 11a。对其二级质谱进行解析,推测出 4 个新成分,列于表 1(化合物 57~60)。



注:a. FISH; b. MS Tree Match

图 11 Mass Frontier 筛选结果

Fig. 11 Screening results for Mass Frontier

将表 1 中化合物 1~60 的 MS<sup>n</sup> 信息导入 Mass Frontier 软件,构建无患子果皮苷类成分数据库。使用 Dot-product 算法对相同母离子下的相同水平 (MS<sup>n</sup>) 质谱图进行 MS Tree Match 的高通量匹配,并选取 Match 得分大于 400 作为匹配阈值,结果共得到 153 个目标化合物,示于图 11b。对上述化合物进行二级谱图解析,推测出 7 个新成分,列于表 1(化合物 61~67)。对上述推测的 11 种新成分进行 HCD 碎裂验证,HCD 除了具有高能碰撞的优势,还具有提供高质量分辨能力和精确质量数的二级谱图信息的能力,大大提高了新成分结构预测的准确性。

## 3 结论

本研究采用 UHPLC-LTQ Orbitrap MS 法建立了多种数据采集、挖掘策略用于无患子果皮中苷类成分的快速鉴别,对无患子果皮中母核结构相近化合物的精细区分以及新成分的预测和验证进行了探讨。该方法能够实现无患子果皮中 67 种苷类化合物的鉴别,可为无患子质量控制及药效学研究提供参考数据,有助于复杂中药成分的快速定性分析。

## 参考文献:

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志,第 47 卷(第 1 分/册)[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [2] 贾黎明,孙操稳. 生物柴油树种无患子研究进展[J]. 中国农业大学学报,2012,17(6):191-196. JIA Liming, SUN Caowen. Research progress of biodiesel tree *Sapindus mukorossi*[J]. Journal of China Agricultural University, 2012, 17(6): 191-196(in Chinese).
- [3] 孙洁如,陈孔常,周鸣方,等. 无患子表面活性物及其复配体系的性质研究[J]. 日用化学工业, 2002,32(4):16-18. SUN Jieru, CHEN Kongchang, ZHOU Mingfang, et al. Study on the properties of *Sapindus* surfactant and its complex system[J]. China Surfactant Detergent and Cosmetics, 2002, 32(4): 16-18(in Chinese).
- [4] 邵文豪,姜景民,董汝湘,等. 不同产地无患子果皮皂苷含量的地理变异研究[J]. 植物研究, 2012,32(5):627-631. SHAO Wenhao, JIANG Jingmin, DONG Ruxiang, et al. Geographic variation of Saponins contents in *Sapindus mukorossi* from different habitats [J]. Bulletin of Botanical Research, 2012, 32(5): 627-631(in Chinese).
- [5] 徐凯节,次旦扎西,丁立生. 无患子属植物的化学成分及生物活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(2):267-273.

- XU Kaijie, CIDAN Zhaxi, DING Lisheng. Research progress on chemical constituents and biological activities of *Sapindus* species[J]. Nat Pro Res Dev, 2013, 25(2): 267-273(in Chinese).
- [6] 李锐,周燕,杨永成,等. 无患子皂苷成分的串联质谱分析[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(1): 52-54.  
LI Rui, ZHOU Yan, YANG Yongcheng, et al. Tandem mass spectrometry analysis of Saponins from *Sapindus mukorossi* [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2006, 27(1): 52-54(in Chinese).
- [7] 王小淳. 高效液相色谱-质谱联用分析无患子中的表面活性物质[J]. 色谱, 2001, 19(6): 529-531.  
WANG Xiaochun. Analysis of surface active substances in *Spindus mukorossi* by high performance liquid chromatography mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2001, 19(6): 529-531(in Chinese).
- [8] 魏文峰,王昶,张树明,等. 串联质谱技术在中药化学成分分析中的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14): 351-354.  
WEI Wenfeng, WANG Chang, ZHANG Shuming, et al. Research progress of tandem mass spectrometry and aits application in chemical components analysis of traditional Chinese medicines[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulate, 2013, 19(14): 351-354(in Chinese).
- [9] 李雪,王倩倩,徐晨,等. 中药质谱分析方法及应用研究[J]. 中国科学, 2014, 44(5): 701-709.  
LI Xue, WANG Qianqian, XU Chen, et al. Study on methods and application of mass spectrometry in traditional Chinese medicine[J]. Science China Press, 2014, 44(5): 701-709(in Chinese).
- [10] 赵超,李会军,陈君,等. 中药复杂成分解析与质量评价的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2012, 43(3): 283-288.  
ZHAO Chao, LI Huijun, CHEN Jun, et al. Progress for chemical analysis and quality control of traditional Chinese medicines [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2012, 43(3): 283-288(in Chinese).
- [11] 关天野,梁艳,李春竹,等. 液相色谱/质谱联用技术的新进展和中药研究的相关热点问题[J]. 中国天然药物, 2011, 9(5): 385-400.  
GUAN Tianye, LIANG Yan, LI Chunzhu, et al. Recent development in liquid chromatography/mass spectrometry and allied topics for traditional Chinese medicine research [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2011, 9(5): 385-400(in Chinese).
- [12] 孙明谦. 中药复杂成分样品的电喷雾质谱分析方法研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2009.
- [13] 王勇为. LTQ-Orbitrap Velos 双分压线性阱和静电场轨道阱组合式高分辨质谱性能及应用[J]. 现代仪器, 2010, (5): 15-19.  
WANG Yongwei. The performance and featured applications of ltq orbitrap velos, a hybrid high resolution mass spectrometer using electrostatic orbital mass analyzer coupled with dual pressure ion trap [J]. Modern Instruments, 2010, (5): 15-19(in Chinese).
- [14] 周建良,周哲,陈碧莲,等. UHPLC/LTQ Orbitrap MS 法解析一种未知西地那非衍生物[J]. 质谱学报, 2016, 37(5): 422-430.  
ZHOU Jianliang, ZHOU Zhe, CHEN Bilian, et al. Identification of an unknown derivative of sildenafil by UHPLC/LTQ Orbitrap MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2016, 37(5): 422-430(in Chinese).
- [15] 谢彤,徐健亚,沈存思,等. 基于 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 的黄芩中黄酮碳苷的结构表征及同分异构体的区分 [J]. 中草药, 2015, 46(22): 3 318-3 325.  
XIE Tong, XU Jianya, SHEN Cunsi, et al. Structural characterization of C-glycosyl flavonoids in *Scutellaria baicalensis* and differentiation of isomers by UPLC/LTQ-Orbitrap-MS [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(22): 3 318-3 325(in Chinese).
- [16] REN Y, WANG P Y, WU C S, et al. Identification of the metabolites after oral administration of extract of ziziphi spinosae semen to rats or dogs by high-performance liquid chromatography/linear ion trap FTICR hybrid mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2013, 27(1): 17-26.
- [17] 刘颖,蔡伟,李宁,等. UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 结合高能碰撞诱导裂解技术快速鉴定大鼠口服麦冬甙体皂苷后的血中移行成分 [J]. 药学报, 2016, 51(11): 1 751-1 758.  
LIU Ying, CAI Wei, LI Ning, et al. Rapid characterization of constituents absorbed into blood after oral administration of steroidal saponins from Radix Ophiopogonis using UHPLC-LTQ-Orbitrap MS coupled with higher energy collision induced dissociation [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2016, 51(11): 1 751-1 758(in Chinese).
- [18] 王子健,刘颖,刘思焱,等. UPLC-HRMS<sup>n</sup> 结合高能诱导裂解快速鉴定麦冬中高异黄酮类成分

- [J]. 质谱学报, 2016, 37(6): 481-491.
- WANG Zijian, LIU Ying, LIU Siyi, et al. Rapid Identification of homoisoflavonoids in *Ophiopogon japonicus* based on UPLC-HRMS<sup>n</sup> combined HCD method[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2016, 37(6): 481-491(in Chinese).
- [19] 李锐. 有机质谱裂解规律及智能解析方法研究[D]. 成都:中国科学院成都生物研究所, 2007.
- [20] 郭宜城, 欧阳辉, 何明珍, 等. UPLC/Q-TOF-MS/MS 鉴定西南银莲花中的皂苷类成分[J]. 中草药, 2014, 45(10): 1 378-1 387.
- GUO Yicheng, OUYANG Hui, HE Mingzhen, et al. Identification of saponins in rhizomes of *Anemone davidii* by UPLC/Q-TOF-MS/MS[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2014, 45(10): 1 378-1 387(in Chinese).
- [21] HUANG H C, WUB M D, TSAI W J, et al. Triterpenoid saponins from the fruits and galls of *Sapindus mukorossi*[J]. Phytochemistry, 2008, 69(7): 1 609-1 616.
- [22] KUO Y H, HUANG H C, YANG L M, et al. New dammarane-type saponins from the galls of *Sapindus mukorossi* [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(12): 4 722-4 727.
- [23] 赵静. 三七中皂苷类成分的裂解规律探究及其化学特征的道地性研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2015.
- [24] TENG R W, NI W, HUA Y, et al. Two new tirucallane-type triterpenoid saponins from *Sapindus mukorossi* [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(3): 369-372.
- [25] ASAO Y, MORIKAWA T, XIE Y Y, et al. Structures of acetylated oleanane-type triterpene saponins, rarasaponins IV, V and VI, and anti-hyperlipidemic constituents from the pericarps of *Sapindus rarak*[J]. Chem Pharm Bull, 2009, 57(2): 198-203.
- [26] 张耀, 汪俊松, 孔令义. 甘遂烷型三萜的研究进展[J]. 中草药, 2010, 41(10): 1 733-1 739.
- ZHANG Yao, WANG Junsong, KONG Lingyi. Advances in studies on tirucallane-type triterpenoids[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(10): 1 733-1 739(in Chinese).
- [27] MORIKAWA T, XIE Y Y, ASAO Y, et al. Oleanane-type triterpene oligoglycosides with pancreatic lipase inhibitory activity from the pericarps of *Sapindus rarak* [J]. Phytochemistry, 2009, 70(9): 1 166-1 172.
- [28] NAKAYAMA K, FUJINO H, KASAI R, et al. Saponins of pericarps of Chinese *Sapindus delavayi* (Pyi-shiau-tzu), a source of natural surfactants[J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(5): 2 209-2 213.
- [29] HUANG H C, LIAO S C, CHANG F R, et al. Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of golden apple snails, *Pomacea canaliculata*[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(17): 4 916-4 919.
- [30] SAHA S, WALIA S, KUMAR J, et al. Screening for feeding deterrent and insect growth regulatory activity of triterpenic saponins from *Diplolknema butyracea* and *Sapindus mukorossi*[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(1): 434-440.
- [31] HUANG H C, TSAI W J, LIAW C C, et al. Anti-platelet aggregation triterpene saponins from the galls of *Sapindus mukorossi* [J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(9): 1 412-1 415.
- [32] NI W, HUA Y, LIU H Y, et al. Tirucallane-type triterpenoid saponins from the roots of *Sapindus mukorossi*[J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(10): 1 443-1 446.
- [33] WONG W H, KASAI R, CHOSHI W, et al. Acyclic sesquiterpene oligoglycosides from pericarps of *Sapindus delavayi*[J]. Phytochemistry, 1991, 30(8): 2 699-2 702.
- [34] HUANG H C, TSAI W J, MORRIS-NATSCHKE S L, et al. Saponins F-J, bioactive tirucallane-type saponins from the galls of *Sapindus mukorossi* [J]. J Nat Prod, 2006, 69(5): 763-767.
- [35] NI W, HUA Y, TENG R W, et al. New tirucallane-type triterpenoid saponins from *Sapindus mukorossi gaetn* [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2004, 6(3): 205-209.
- [36] MORIKAWA T, XIE Y Y, NINOMIYA K, et al. Inhibitory effects of acylated acyclic sesquiterpene oligoglycosides from the pericarps of *Sapindus rarak* on tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced cytotoxicity[J]. Chem Pharm Bull, 2010, 58(9): 1 276-1 280.
- [37] ZHANG X M, YANG D P, XIE Z Y, et al. Two new glycosides isolated from *Sapindus mukorossi* fruits: effects on cell apoptosis and caspase-3 activation in human lung carcinoma cells[J]. Natural Product Research, 2016, 30(13): 1 459-1 463.
- [38] NI W, HUA Y, LIU H Y, et al. Tirucallane-type triterpenoid saponins from the roots of *Sapindus mukorossi*[J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(10): 1 443-1 446.