

SCIEX 数据处理软件中的半靶向搜索功能快速鉴定翼首草中的三萜皂苷类成分

Application of Semi-targeted search and quickly Identification of Triterpenoid saponins in Traditional Chinese Medicine Pterocephalus hookeri by the software of SCIEX

雷敏, 龙志敏, 郭立海

Lei Min, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX, 中国

Key Words: QTOF System, Traditional Chinese Medicine Pterocephalus hookeri, Triterpenoid saponins, semi-targeted search and Identification

引言

翼首草, 川续断科植物匙叶翼首草 Pterocephalus hookeri (C.B. Clarke) Hoeck 的干燥全草, 广泛分布在中国的西藏等地, 是我国传统民族藏药材, 具有解毒除瘟, 清热止痢, 祛风通痹之功效。

文献报道^[1,2], 三萜皂苷类成分为翼首草中主要的药效成分之一。一系列的三萜皂苷类化合物在质谱中裂解后会产生以基本母核三萜皂苷元为子离子的特征碎片。结合此特点, 在 SCIEX QTOF 独有的数据依赖性采集结合动态背景扣除功能 (IDA+DBS) 采集方式下获得大部分化合物二级数据的基础上, 再使用 SCIEX 数据分析软件 (Peakview® 软件或 SCIEX OS 软件) 中半靶向特征子离子或中性丢失搜索功能, 对中药中具有相同基本母核结构的一类有效成分进行搜索, 可快速提取出具有相同碎片或相同中性丢失的一类成分, 是一种高效的搜索和鉴定方法。搜索功能界面见下图 1。

本文实验方法特点

- 本文展示了基于四极杆串联时间飞行质谱仪 (QTOF) 采集的数据, 结合 SCIEX 数据分析软件 (Peakview® 软件或 SCIEX OS 软件) 进行半靶向搜索, 快速鉴定中药翼首草中的三萜皂苷类成分, 方法具有以下特点:

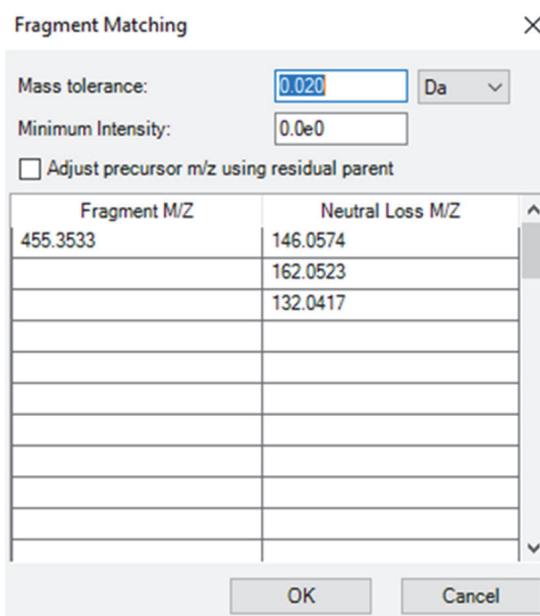
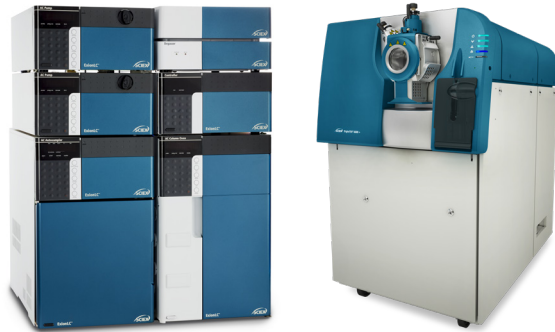


图 1. SCIEX 数据分析软件中特定的碎片离子和中性丢失搜索功能。

- 以 SCIEX QTOF 高分辨质谱的数据依赖性采集结合动态背景扣除功能 (IDA+DBS) 采集方式, 保证获得尽可能多化合物的二级数据的采集为前提。
- 利用特征碎片离子过滤的方式 (Fragment Matching) 搜索样品中的三萜皂苷类成分, 可有效快速的搜索出大量有该特征碎片离子的所有三萜皂苷类成分。
- 该方法为 QTOF 采集的数据提供一种快速的, 有效的半靶向数据分析的思路, 并且能快速全面的鉴定到新化合物。

仪器设备

SCIEX ExionLC™系统 + Triple TOF®系统



动态背景扣除(DBS)开启

离子源参数:

电喷雾电压: -4500 V 气帘气 CUR: 35 psi
 雾化气 GAS1: 55 psi 雾化气 GAS2: 55 psi
 源温度 TEM: 550 °C 去簇电压 DP: -80 V
 碰撞能量 CE ± CES: -40 ± 20 V

鉴定结果

由文献^[1,2]报道, 翼首草中的三萜皂苷类成分主要以齐墩果酸 (oleanolic acid) 为基本母核结构, 因此在负离子模式下, 使用齐墩果酸电离后的m/z 455.3533做为特征碎片离子进行半靶向搜索, 并根据每个峰的二级谱图, 鉴定为以下28个三萜皂苷类成分以及一个皂苷元成分。鉴定详细结果见表1。

液相方法

色谱柱: Waters XSelected T3 (150 × 2.1mm, 3.5 μm)

流动相: A相: 水 (5 mmol/L醋酸铵)

B相: 乙腈

流速: 0.4 ml/min

柱温: 40 °C

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	98	2
1	98	2
25	5	95
30	5	95
30.1	98	2
35	98	2

质谱方法

离子源: 电喷雾离子源ESI源, 负离子模式

采集方式: TOF MS (飞行时间质谱一级扫描) -10 MS/MS (飞行时间质谱二级扫描)

飞行时间质谱一级扫描TOF MS: 质荷比范围(Da)100-1800

飞行时间质谱二级扫描TOF MS/MS: 质荷比范围(Da)50-1800

自动校正系统(CDS)开启

典型图谱

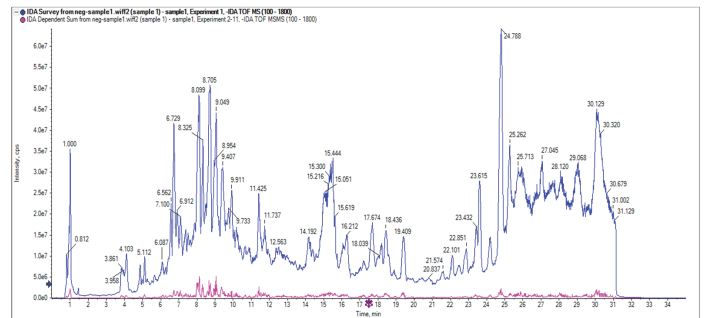


图2. 负离子模式下采集的TIC图谱。

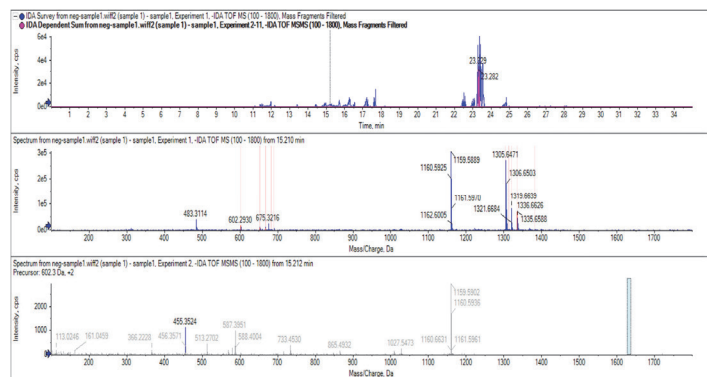


图3. 使用m/z 455.3533作为特征离子过滤后的图谱, 三张图谱从上到下依次为过滤后的XIC图谱, 15.210 min对应的一级谱图, 以及有该特征碎片离子的某个峰对应的二级图谱。

表1. 翼首草中鉴定到的三萜皂苷类成分鉴定列表。

序号	化合物名称	分子式	加和离子/带电数目	保留时间 (min)	母离子质荷比(Da)	质量偏差 (ppm)	碎片离子质荷比(Da)
1	oleanolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	[M-H] ⁻	23.43	455.3524	-1.4	407.3318,391.2998, 441.3378,375.2681
2	oleanolic acid+Glu	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	[M-H] ⁻	16.61	617.4053	-1	455.3520,441.3391,407.3323
3	oleanolic acid+2Glu	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	[M+FA-H] ⁻	15.02	825.4644	0.2	779.4587,455.3527,323.0973
4	oleanolic acid+Glu+xyl	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	16.16	749.4474	-1	587.3959, 569.3827,455.3524,
5	oleanolic acid+Glu+2xyl+Rha 1	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₀	[M+FA-H] ⁻	13.42	1073.5545	0.7	1027.5541,865.4970,733.4580,587.3958,455.3588
6	oleanolic acid+Glu+2xyl+Rha 2	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₀	[M-H] ⁻	11.54	1027.5487	0.4	865.4955,733.4532,587.3939,455.3533,847.4824,715.4443,569.3858
7	oleanolic acid+Glu+2xyl+Rha 3	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₀	[M-H] ⁻	15.38	1027.5478	-0.5	865.4953, 733.4542, 587.3950,455.3531,847.4887,715.4436,569.3857
8	oleanolic acid+Glu+2xyl+2Rha	C ₅₈ H ₉₄ O ₂₄	[M-H] ⁻	15.59	1173.6051	-1.0	1011.5557,865.4986,733.4541,587.3946,455.3539,993.5399,847.4843,715.4477,569.3824,439.1457, 221.0665,161.0455,179.0551
9	oleanolic acid+Glu+2xyl+3Rha	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₂₈	[M-H] ⁻	15.39	1319.6632	-0.7	1173.6094, 1011.5509, 733.4570, 587.3981,455.3562,
10	oleanolic acid+Glu+3xyl+Rha 1	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₄	[M-H] ⁻	11.48	1159.5909	0.3	1027.5485,733.4875,587.3957,455.3549
11	oleanolic acid+Glu+3xyl+Rha 2	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₄	[M-H] ⁻	15.2	1159.5896	-0.9	1027.5492,1009.5402, 865.4944, 733.4516, 587.3958,455.3547
12	oleanolic acid+Glu+3xyl+2Rha 1	C ₆₃ H ₁₀₂ O ₂₈	[M-H] ⁻	11.42	1305.6486	0.1	1159.5837,1141.5788,1027.5522,1009.5485, 865.4993,847.4855,733.4564, 587.3931, 455.3552
13	oleanolic acid+Glu+3xyl+2Rha 2	C ₆₃ H ₁₀₂ O ₂₈	[M-H] ⁻	15.17	1305.6472	-1	1159.5841,1141.5757,1027.5492,1009.5390,865.4948, 847.4828,733.4578,587.3960,569.3851,455.3518
14	oleanolic acid+xyl+Rha	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₁	[M+FA-H] ⁻	17.23	779.4582	-0.7	733.4510, 734.4557, 587.3947,569.3847,455.3524
15	oleanolic acid+2xyl+Rha 1	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	11.98	865.4953	-0.2	733.4559,715.4463,587.3962,569.3855,455.3536
16	oleanolic acid+2xyl+Rha 2	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	13.42	865.496	0.6	733.4510,587.3972,455.3539
17	oleanolic acid+2xyl+Rha 3	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	15.62	865.496	0.6	733.4536,689.4683,455.3534
18	oleanolic acid+2xyl+Rha 4	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₅	[M-H] ⁻	16.3	865.4949	-0.7	733.4539,715.4444,587.3960,569.3850,455.3538
19	oleanolic acid+2xyl+2Rha	C ₅₂ H ₈₄ O ₁₉	[M-H] ⁻	16.04	1011.5526	-0.8	865.4966,847.4860,733.4528,715.4440, 587.3954,569.3874,455.3527
20	oleanolic acid+3xyl+Rha	C ₅₁ H ₈₂ O ₁₉	[M-H] ⁻	15.65	997.5384	0.7	733.4550,587.3932,455.3557
21	oleanolic acid+3xyl+2Rha	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₃	[M-H] ⁻	15.82	1143.595	-0.6	1011.5558,865.4963,733.4509,455.3545

表1. 翼首草中鉴定到的三萜皂苷类成分鉴定列表(续)。

序号	化合物名称	分子式	加和离子/带电数目	保留时间 (min)	母离子质荷比(Da)	质量偏差 (ppm)	碎片离子质荷比(Da)
22	oleanolic acid+2xyl	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	17.08	719.4374	-0.3	587.3946,569.3857,455.3540
23	rivularicin	C ₆₂ H ₁₀₀ O ₂₇	[M-H] ⁻	15.72	1275.637	-0.7	1143.5982,1011.5572,733.4543,587.3961,455.3548
24	hookeroside A	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₃₀	[M+FA-2H] ²⁻	11.54	698.3252	-1.2	1351.6220,1027.5467,1028.5530,865.4933,733.4527,587.3952,513.2689,455.3526,366.2219,323.0981,221.0672,179.0562
25	hookeroside B	C ₆₉ H ₁₁₂ O ₃₄	[M+FA-2H] ²⁻	11.48	764.3465	-1	1483.7036,1159.5919,1160.5963,1027.5501,1009.5385,865.4983,733.4544,587.3971,579.2924,513.2698,455.3531,369.1041,323.0989,221.0667
26	hookeroside C	C ₇₅ H ₁₂₂ O ₃₈	[M+FA-2H] ²⁻	11.74	837.3754	-0.9	1629.7635,1347.6597,1305.6466,1306.6503,1173.6065,1011.5541,865.4966,837.3754,652.3200,587.3963,455.3539,323.0983,221.0668,179.0561
27	oleanolic acid+2Glu+2xyl+Rha	C ₅₈ H ₉₄ O ₂₅	[M+2FA-2H] ²⁻	11.99	640.3015	-1.5	1189.6122,865.4945,733.4541,715.4429,587.3951,569.3848,455.3529,366.2231,323.0988,221.0667,179.0560
28	oleanolic acid+2Glu+Rha+xyl	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₁	[M+2FA-2H] ²⁻	12.2	574.2807	-1	1057.5590,1058.5565,733.4532,734.4572,587.3957,455.3537,323.0989,221.0659,179.0560
29	hookeroside A-O	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₂₉	[M-H] ⁻	15.27	1335.658	-0.7	1173.6092,1011.5520,733.4537,587.3926,455.3541

备注: oleanolic acid为齐墩果酸; Glu为葡萄糖基; Rha为鼠李糖基; Xyl为木糖基; FA为甲酸。分子式中基团前的数字代表该基团的数目, 如2Glu, 表明含两分子葡萄糖。

结构解析

以hookeroside A的二级谱图为例(见图4), 进行二级碎片结构归属, 推测其断裂位置见图3。

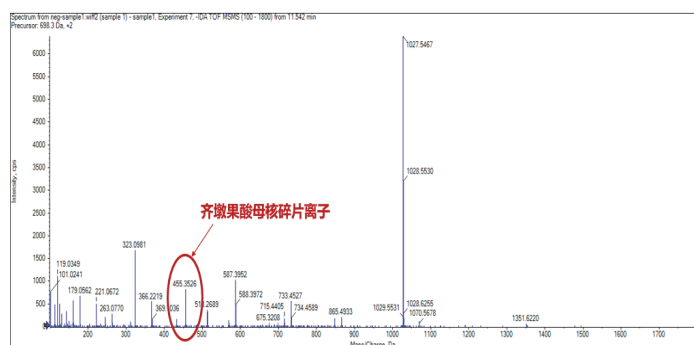


图4. hookeroside A的二级谱图。

使用软件中的标注功能, 标注某一个质荷比的离子后, 软件自动计算该离子与其他子离子之间的质荷比差, 便于推测中性丢失部分归属糖基的类型, 见图5。根据该二级图谱推测hookeroside A裂解过程, 见图6。

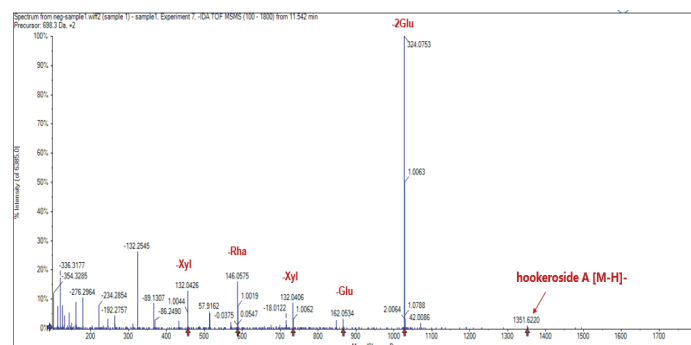


图5. 软件标注某些质荷比的离子后的hookeroside A的二级质谱图, Glu为葡萄糖基; Rha为鼠李糖基; Xyl为木糖基。

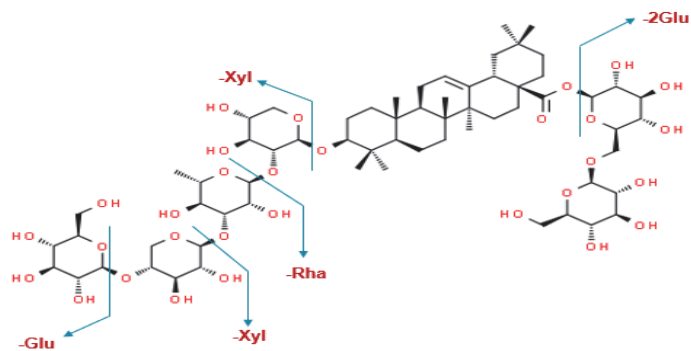


图6. 推测hookeroside A可能裂解的位置。Glu为葡萄糖基；Rha为鼠李糖基；Xyl为木糖基。

总结

本文使用了SCIEX的数据分析软件中特征碎片离子过滤的半靶向搜索功能，简单易操作，可以快速的搜索出大量的有相同基本母核结构的三萜皂苷类成分，用于后续的鉴定，可快速的鉴定到大量的新化合物。该文中半靶向搜索功能为搜索和鉴定中药中三萜皂苷类成分提供了很好的参考和思路。

参考文献

- [1] Tian J, Wu Feng-E, Qiu Ming-H, Nie Rui-L. Triterpenoid saponins from *Pterocephalus hookeri*. [J]. *Phytochemistry*. 1993, Vol.32, No.6, pp 1535-1538.
- [2] 田军, 吴凤镔, 丘明华, 等. 匙叶翼首草的化学成分[J]. *天然药物研究与开发*, 1999, 12 (1) :35-37.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。

© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-11791-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7200
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510-0200
传真：020-3876-0835
官方微信：[ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)