

## 利用单四极杆质谱仪进行汉方药快速筛查

01-00636-CN

柴山 泰子、服部 考成

### 特点描述

- ◆ 使用单四极杆质谱 LC-MS 快速对汉方药进行筛选；无需色谱分离的直接进样分析，可实现小于 1 min/ 针的高通量分析。
- ◆ 通过使用 eMSTAT Solution<sup>TM</sup> 对获得的质谱数据进行分析，可以轻松实现汉方药样品的分类、表征以及判别分析，以确定未知样品如何进行分组。

### ■ 引言

众所周知，中草药的药性会因生长环境（如产地和气候）以及采收时间的不同而有所差异。因此，对新药材和现有药材进行等效性评估非常重要。由于中草药由成百上千种成分组成，因此化学评估需要进行多方面的组分分析。近年来，利用代谢组学技术对中草药进行化学评估，综合分析代谢物。

本应用报告将介绍使用流动注射（FIA）和单四极杆质谱（LC-MS）筛选汉方药（草药）的案例研究。虽然汉方药由多种中草药配制而成，成分复杂，但可以使用本文提到的新方法对其进行简单快速地筛选，并进行中草药的分类和表征。

### ■ 样品及前处理

我们分析了 6 种市售的葛根汤提取物颗粒。向葛根汤提取物颗粒 1.5 g 中加入 50% 甲醇水溶液 15 mL，搅拌 15 分钟。然后，超声提取 15 分钟，离心分离（12000 rpm，20 分钟）并收集上清液。将上清液用含有内标物质（5 ppm 利血平、20 ppm 氯霉素）的 50% 甲醇水溶液稀释 10 倍，作为待测样品。

### ■ 仪器与分析条件

图 1 展示了 Nexera<sup>TM</sup> 系列 HPLC 与单四极杆质谱 LCMS-2050 的联用系统。该系统结构紧凑，使用便利而且性能卓越。通常，流动注射直接注入样品（FIA）而不接色谱柱，是一种比较容易污染质谱仪的分析方法，但 LCMS-2050 抗污染能力和耐用性强，且维护简单，因此适合于流动注射分析。表 1 所示为分析条件。


 图 1 Nexera<sup>TM</sup>、LCMS<sup>TM</sup>-2050 系统

表 1 分析条件

[ 流动注射进样条件 ] (Nexera XR)	
流速	: 0.1 mL/min (0 min) → 0.05 mL/min (0.1 min) → 0.1 mL/min (0.65 min) → 1 mL/min (1 min)
流动相	: 水 / 甲醇 =50:50
进样量	: 1 μL
[MS 条件] (LCMS-2050)	
离子化方式	: ESI/APCI (DUIS <sup>TM</sup> ), 正负离子模式
模式	: SCAN ( <i>m/z</i> 50-2000)
接口电压	: +3.0 kV / -2.0 kV
雾化气流量	: 2.0 L/min
干燥气流量	: 5.0 L/min
加热气体流量	: 7.0 L/min
脱溶剂温度	: 450°C
DL 温度	: 200°C

使用图 2 所示的 Nexera 系列 HPLC 与 LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱（Q-TOF）联用系统对检测峰进行鉴定。表 2 所示为分析条件。


 图 2 Nexera<sup>TM</sup>、LCMS-9030 系统

表 2 分析条件

[ 流动注射进样条件 ] (Nexera XR)	
流速	: 0.1 mL/min
流动相	: 水 / 甲醇 =50:50
进样量	: 1 μL
[MS 条件] (LCMS-9030)	
离子化方式	: ESI (正离子或负离子模式)
模式	: MS 和 MS/MS
雾化气流量	: 3.0 L/min
干燥气流量	: 10.0 L/min
加热气体流量	: 10.0 L/min
接口温度	: 300°C
DL 温度	: 250°C
HB 温度	: 400°C

## ■ 数据分析

通过 LabSolutions™ LCMS 将所得的质谱数据转换为 JCAMP 格式，并使用 eMSTAT Solution 进行数据分析。eMSTAT Solution 具备统计分析模式和判别分析模式，即便不太熟悉统计分析程序的人也能轻松地完成从统计分析到判别分析的所有操作（图 3）。每个样品分析四次，创建用于多变量分析的数据集。用利血平校正正模式下获得的数据，用氯霉素校正负模式下获得的数据。

## ■ 快速筛查分析

对 5 种葛根汤提取物 A-E 进行扫描分析，结果在正离子模式下检测到 91 个色谱峰，在负离子模式下检测到 199 个色谱峰。对正离子模式下所得数据进行了主成分分析 (PCA)，结果如图 4 所示。葛根汤 B 与葛根汤 E 分布在相近位置，趋势相似。与其他葛根汤相比，葛根汤 A 的趋势有很大差异。对负离子模式下所得数据进行主成分分析，结果如图 5 所示。葛根汤 A 与葛根汤 C 在相近位置，趋势相似。



图 3 eMSTAT Solution™ 的工作流程

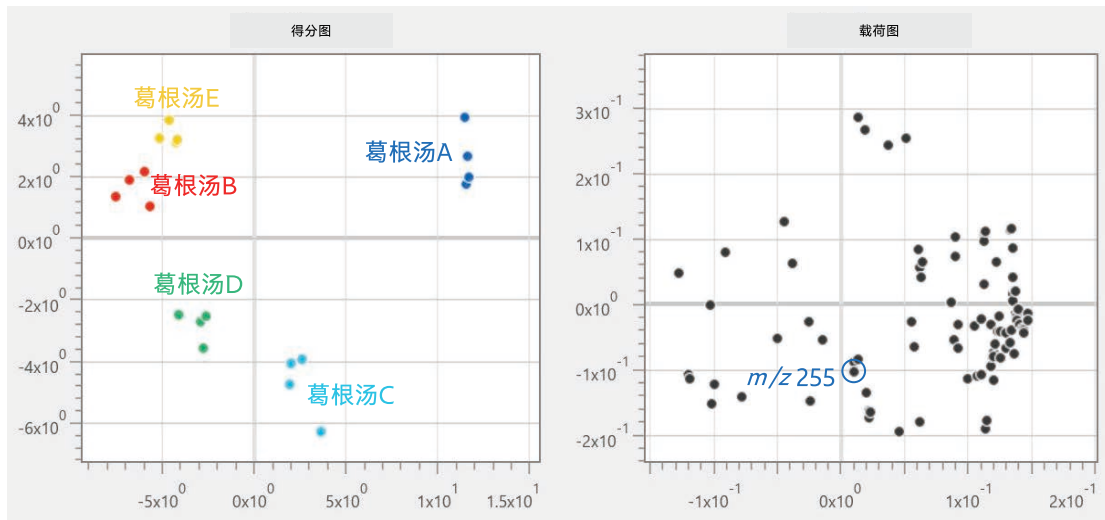


图 4 PCA 的结果 (正离子模式)

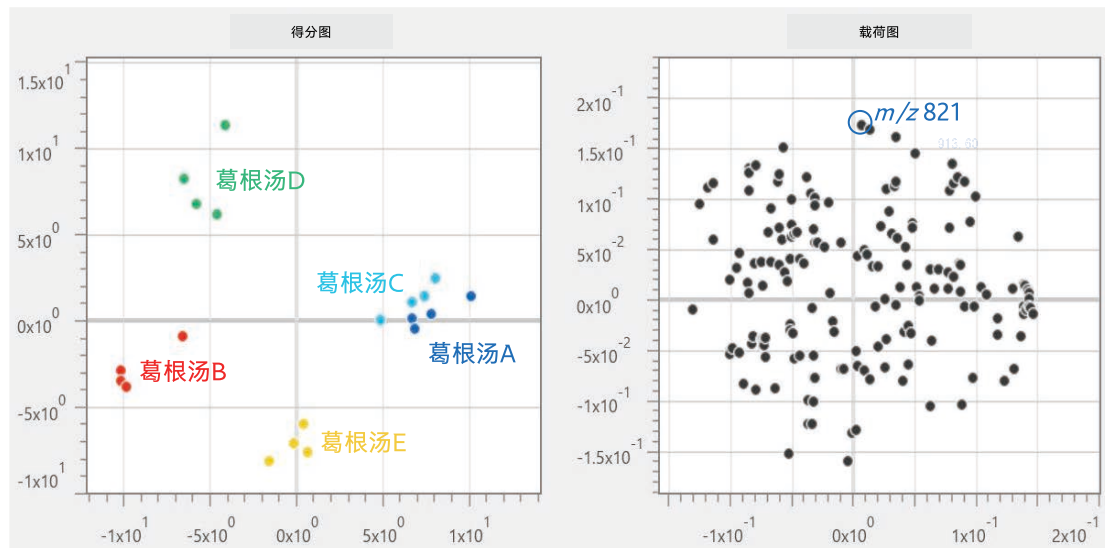


图 5 PCA 的结果 (负离子模式)

将正离子模式 PCA 分析中表现出相似特征的葛根汤 B、E 划分为一组，再次进行 PCA 分析。根据其结果，创建一个判别模式（算法：随机森林）用于确定未知葛根汤样本属于哪种现有的葛根汤类型。使用该判别模型对单独分析的葛根汤 F 进行了判别分析（图 6），结果表明葛根汤 F 分布在葛根汤 B、E 附近，确定其属于与葛根汤 B、E 相近的类型（平均评分 88.5）。

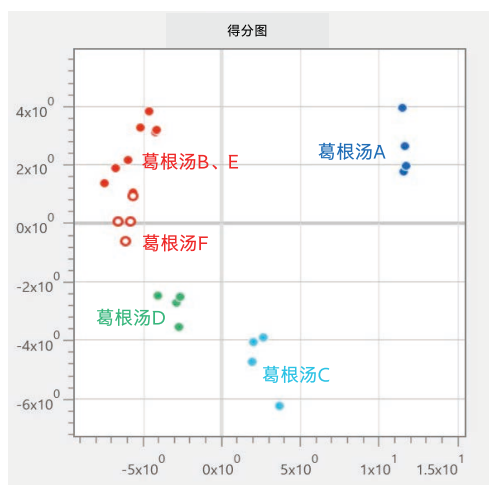
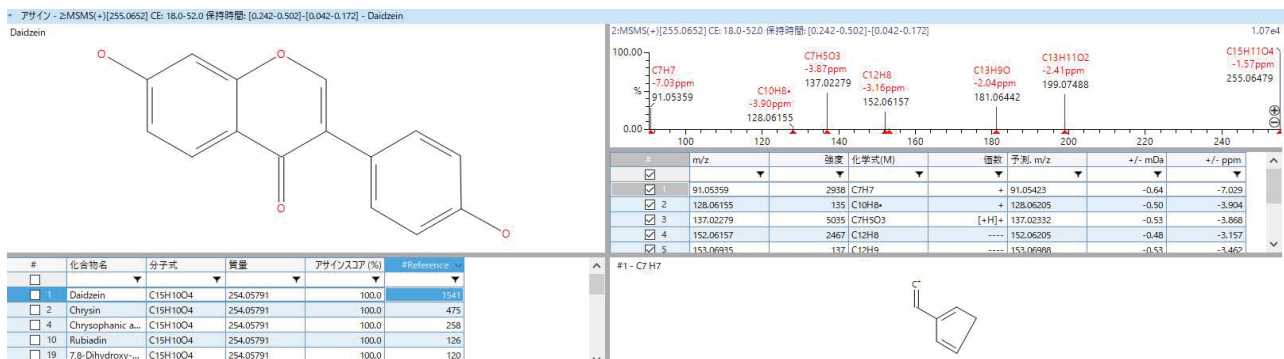


图 6 判别分析的结果

•  $m/z$  255 (+) 的谱峰鉴定结果



•  $m/z$  821 (-) 的谱峰鉴定结果

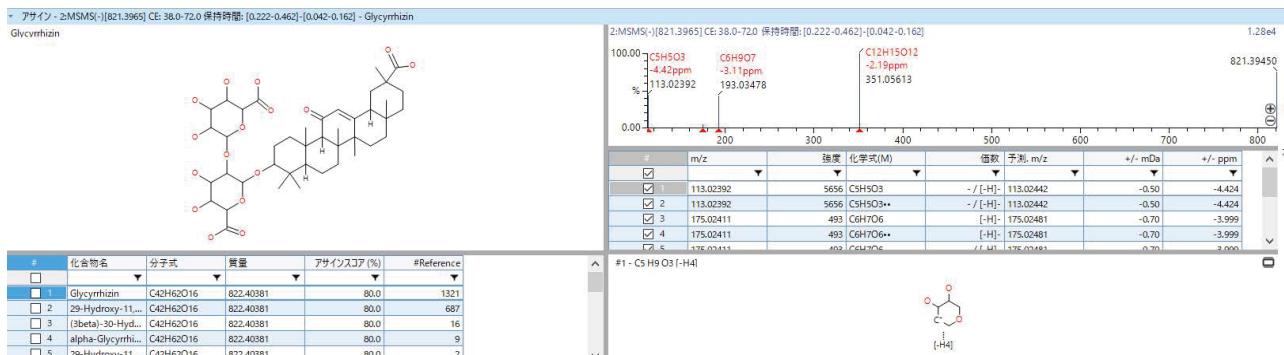


图 7 Q-TOF 的鉴定结果

■ 利用 Q-TOF 进行谱峰鉴定

利用单四级杆 LC-MS 检测的谱峰当中，部分峰被认为是葛根汤的活性成分。为了高精度鉴定这些谱峰，我们利用 Q-TOF 液质联用仪进行了 MS 及 MS/MS 分析。通过 LabSolutions Insight Explore™ 软件对所得数据进行处理，并用 ChemSpider 数据库对二级质谱信息进行在线搜索。结果如图 7 所示，例如，在正负离子模式下分别检测到的  $m/z$  255 和  $m/z$  821，被推测为大豆苷元和甘草酸。理论  $m/z$  与实测  $m/z$  的差异在 1 mDa 以下，实现了高精度鉴定。

■ 结论

本应用报告以葛根汤提取物颗粒为例，介绍了一种简单的快速筛查汉方药（中草药）的分析方法。利用流动注射（FIA）和单四级杆质谱仪 LCMS-2050，从葛根汤提取物颗粒中检测到了包括活性成分在内的 290 个峰，这些峰通过主成分分析（PCA）进行样品分类和表征。此外，分析结果还用于判别分析，以确定未知葛根汤样本接近于现有的哪种类型的葛根汤。本方法为高通量分析，分析时间为 1 分钟，极大地提高了对大量汉方药或中草药进行筛选分析的效率。

岛津应用云



LCMS、eMSTATSolution、Nexera、DUIS、LabSolutions、LabSolutionsInsightExplore 是岛津制作所株式会社或其相关公司在日本及其他国家/地区的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话：800-810-0439  
400-650-0439

免责声明：

※ 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；  
※ 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。  
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2024 年 2 月