

LCMS-8030 定性鉴别阿胶药材

LCMSMS-214

摘要：本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用定性鉴别阿胶药材的方法。本文参照《中国药典(2015 版)》中阿胶项下，使用胰蛋白酶酶解阿胶样品，选择阿胶的特征肽作为定性依据；按照药典要求建立了 $m/z539.8>612.4$ 和 $m/z539.8>923.8$ 检测离子对，且对照品溶液及市售药材样品中阿胶特征肽的信噪比均远远大于 3:1。该方法完全满足药典的要求，实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

关键词：高效液相色谱 三重四极杆质谱 阿胶特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药，为动物的皮熬制而成的明胶类物质。阿胶系驴皮经煎煮浓缩成的固体胶，能补血滋阴、润燥止血，用于贫血心悸、燥咳咯血、先兆流产、产后血虚、肌痿无力，是中医临床常用补益药。阿胶经水解后其胶原蛋白变为分子量更小的肽类，从而失去原有胶原蛋白的性质，无法进行来源

鉴别。2015 版药典对阿胶的定性方法进行了修订，由 2010 版的茚三酮显色法修改为采用液质联用的方法检测特征肽段，方法更科学可靠。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8030 对阿胶中的特征肽段进行了分析，建立了阿胶定性鉴别分析方法，可为该类样品的分析提供参考。

实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-20A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-20AD×2 输液泵，DGU-20A3 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.60SP2 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Inertsil ODS-4 (2.1 mm I.D.×250 mm L., 5 μ m)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液

B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40℃

进样量：5 μ L

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Action	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
20.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
40.10	Pumps	Pump B Conc.	100
45.00	Pumps	Pump B Conc.	100
45.10	Pumps	Pump B Conc.	5
55.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子模式

离子喷雾电压: +4.5 kV

雾化气流速: 氮气 3.0 L/min

干燥气流速: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氦气

DL 温度: 250℃

加热模块温度: 400℃

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 ms

延迟时间: 3 ms

表2 MRM优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
驴皮特征肽段	539.8	612.40	-38	-22	-22
		923.80	-38	-24	-40

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取对照药材或待测样品粉末 0.1 g, 加 1% NH_4HCO_3 溶液 50 mL, 超声处理 30 min, 使用微孔滤膜滤过。参照《中国药典 (2015 版)》阿胶项下, 取滤液 100 μL , 置于进样瓶中, 加胰蛋白酶溶液 (取序列分析纯胰蛋白酶适量, 加 1% NH_4HCO_3 溶液溶解, 制成每 1 μL 中含 1 mg 胰蛋白酶的溶液) 10 μL , 摇匀, 37℃恒温酶解 12 h, 作为对照药材溶液或供试液, 进 LCMS-8030 分析。

结果与讨论

2.1 阿胶对照药材的 MRM 色谱图

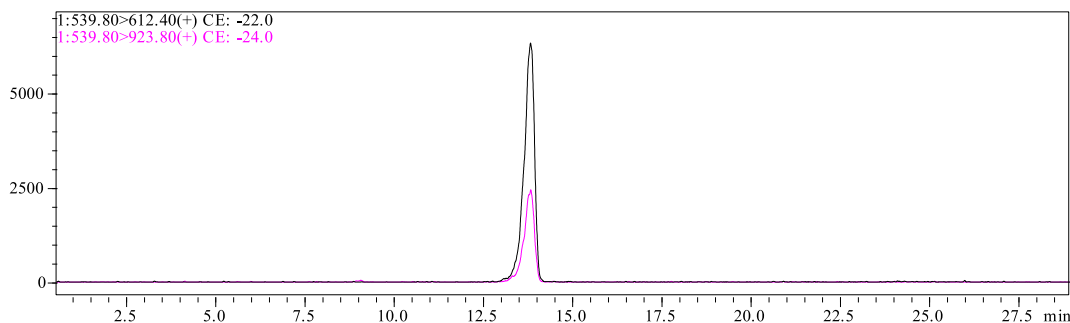


图1 阿胶对照药材特征多肽的MRM色谱图

LCMSMS 分析获得阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图, 保留时间为: 13.76 min, 图 1 中两对特征离子对 539.8>612.4 以及 539.8>923.8 的信噪比分别为 1161 和 705, 充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品分析

对市售的一种阿胶药材样品进行分析, 结果如图 2 和表 3 所示。

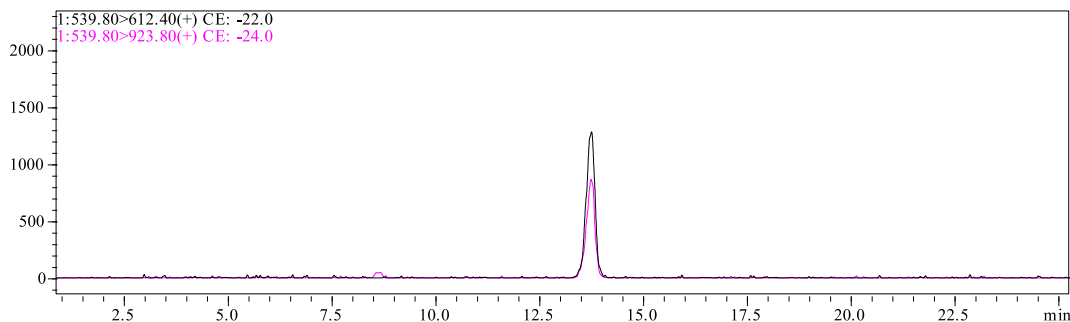


图2 市售阿胶样品的MRM色谱图

表3 实际样品中驴皮源特征肽段分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间(min)	峰高	峰面积	信噪比
样品	539.8>612.4	13.76	1266	18994	464
	539.8>923.8		856	12360	499

结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8030 鉴定阿胶中特征肽段, 实现了阿胶定性鉴别的方法。该方法所检测阿胶特征肽段 MRM 色谱图中离子对 539.8>612.4, 539.8>923.8 的响应明显, 完全满足 2015 版药典要求色谱峰信噪比大于 3:1 的要求, 市售阿胶药材样品分析结果表明所测样品中含有阿胶成分。因此, 本方法可为应对药典要求实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。