

## 一种分离和检测致幻蘑菇中裸盖菇素、相关色胺类和β-咔啉类化合物的方法

---

Adam Bengtson, Paul D. Rainville, Fadi L. Alkhateeb, Stephanie Harden

Waters Corporation

### 摘要

致幻蘑菇近来因其在疾病治疗中的应用而受到关注。研究人员在这些蘑菇中发现了两类活性化合物：色胺（包括裸盖菇素）和β-咔啉（一类已知的抗抑郁药）。本研究的目的是使用一种色谱方法分离一组六种色胺和四种β-咔啉类化合物。这些化合物充当路易斯碱，已知会与标准不锈钢HPLC系统中的金属氧化物层发生相互作用。

MaxPeak高性能表面(HPS)技术已被证明可以解决分析物与金属氧化物相互作用的相关问题<sup>1</sup>。从色谱结果中可以看出，峰面积和峰高分别增加了高达426%和882%。本文介绍了一种使用Arc™ Premier系统结合Empower™样品组生成器(SSG)和XSelect™ Premier HSS T3色谱柱分离一组10种色胺和β-咔啉类化合物的方法。

### 优势

- 与标准不锈钢HPLC系统相比，使用MaxPeak HPS技术可显著改善色谱性能
- 一种更加绿色环保的方法，使用更环保的甲醇作为强溶剂开发
- 一种仅需15 min即可使一组色胺和β-咔啉类化合物实现基线分离的方法
- 使用Empower样品组生成器快速创建仪器方法和样品组

## 简介

近年来，对致幻蘑菇中所含化合物的研究重新成为焦点。大多数研究都集中在色胺裸盖菇素的药用价值上，特别是它在治疗峰簇性头疼、焦虑、抑郁、强迫症、创伤后应激障碍和药物滥用等疾病方面的应用<sup>2</sup>。这些蘑菇除具有药用价值外，它们在某些地区的娱乐用途的合法化也呈上升趋势<sup>3</sup>。

在食用生蘑菇时，实现正确的剂量控制相当困难，因为不同属、种、变种以及生长条件下的蘑菇中，活性化合物的含量差异很大<sup>4</sup>。此外，有零星报道称，食用致幻蘑菇后会出现肌无力等不良反应，这种效应据推测是由裸盖菇素的相关色胺之一“铜绿菌素”引起的<sup>5</sup>。这些蘑菇中所含的β-咪啉类化合物是一种单胺氧化酶抑制剂(MAOI)。MAOI通常用作抗抑郁处方药，但它也会影响色胺的代谢<sup>6</sup>。这种化合物混合物可能产生的协同效应（有利和有害）尚未经过充分研究。为了促进临床研究的开展，以及确保用药的安全性和准确性，需要一种简单快速的方法来分离这些化合物。

本文所述研究开发了一种用于分离10种色胺和β-咪啉类化合物的HPLC方法。这些化合物的化学结构如图1所示。在方法开发过程的优化步骤中，使用Empower SSG自动创建仪器方法。至关重要的是，利用Waters™ MaxPeak HPS技术可大幅降低分析物与金属氧化物发生相互作用的相关风险。

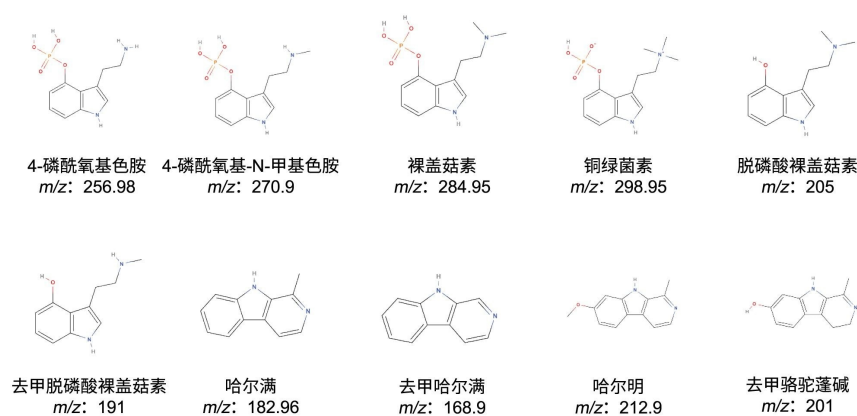


图1.本研究中使用的所有10种化合物的化学结构和相应的 $m/z$ 。

## 实验

## 样品描述

裸盖菇素和脱磷酸裸盖菇素购自Sigma Aldrich（德国达姆施塔特），分别溶于1:1乙腈:水中。4-磷酸氧基-N-甲基色胺、铜绿菌素、4-磷酸氧基色胺、去甲脱磷酸裸盖菇素、哈尔满、哈尔明、去甲哈尔满、去甲骆驼蓬碱均购自Caymen Chemicals（美国密歇根州）

使用标准品制备一组色胺和 $\beta$ -咔啉类化合物，模拟致幻蘑菇中的活性化合物。这些化合物通常使用甲醇提取<sup>7</sup>。为反映这一点，使用5%水、5%乙腈和90%甲醇制备一组包含所有10种化合物的样品，裸盖菇素、脱磷酸裸盖菇素、4-磷酸氧基-N-甲基色胺、铜绿菌素、4-磷酸氧基色胺、去甲脱磷酸裸盖菇素和去甲骆驼蓬碱的浓度为0.05 mg/mL，哈尔满、哈尔明、去甲哈尔满的浓度为0.025 mg/mL。

## 液相色谱条件

液相色谱系统:	Arc Premier QSM-r
检测:	PDA 2998, 254 nm
样品瓶:	1 mL全回收样品瓶, P/N: 186000385DV
色谱柱:	XSelect Premier HSS T3色谱柱, 100 Å, 2.5 $\mu$ m, 4.6 x 100 mm, P/N: 186009859
柱温:	25 °C
样品温度:	15 °C
进样体积:	1 $\mu$ L
流速:	0.75 mL/min
流动相A:	0.1%甲酸的去离子水溶液
流动相B:	0.1%甲酸的甲醇溶液

## 梯度表

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
0	0.75	88	12	6
1	0.75	88	12	6
10	0.75	45	55	6
10.2	0.75	5	95	6
12	0.75	5	95	6
12.1	0.75	88	12	6
15	0.75	88	12	6

## MS条件

质谱系统: ACQUITY QDa™质谱检测器

电离模式: 正离子

采集范围: 100–400

毛细管电压: 0.8 kV

锥孔电压: 15 V

## 数据管理

色谱软件: Empower 3.8.0

质谱软件: Empower 3.8.0

信息学软件: Empower 3.8.0

---

## 结果与讨论

### 方法开发

在方法开发过程中筛选了四种选择性各不相同的色谱柱，分别是：XBridge™ Premier BEH C<sub>18</sub>、XSelect Premier CSH C<sub>18</sub>、XSelect Premier CSH 苯己基和XSelect Premier HSS T3。所有色谱柱的尺寸均为2.5 μm，4.6 x 100 mm。筛选过程中同时使用了PDA和QDa质谱检测器进行峰鉴定。数据表明，分析物在XSelect Premier HSS T3色谱柱上获得的色谱峰形和保留性均更好。由于XSelect Premier HSS T3色谱柱表现出优异的性能，因此选择该色谱柱用于进一步的方法优化。

方法优化步骤利用Empower SSG研究梯度时间、强溶剂百分比、温度、流速和强溶剂类型等参数。使用此应用程序时，用户必须创建一个可以导入SSG的CSV电子表格。按照提示操作后，应用程序将按照设定的规格创建样品组。这样可以降低单独创建仪器方法和样品组时的出错率并节省时间。

分析优化数据时，将代表铜绿菌素和4-磷酸氧基-N-甲基色胺的第二个和第三个色谱峰鉴定为关键分析物对。在最终方法中，这两种化合物实现了基线分离，USP分离度为1.95，如图2所示。该方法使用相对较低的柱温25 °C，流速为0.75 mL/min，梯度时间更短，甲醇在9 min内从12%增加至55%。使用甲醇与使用乙腈相比，得到了更出色的保留性和色谱性能，此外，甲醇还是一种更加绿色环保的溶剂，因此被选择用于最终方法。

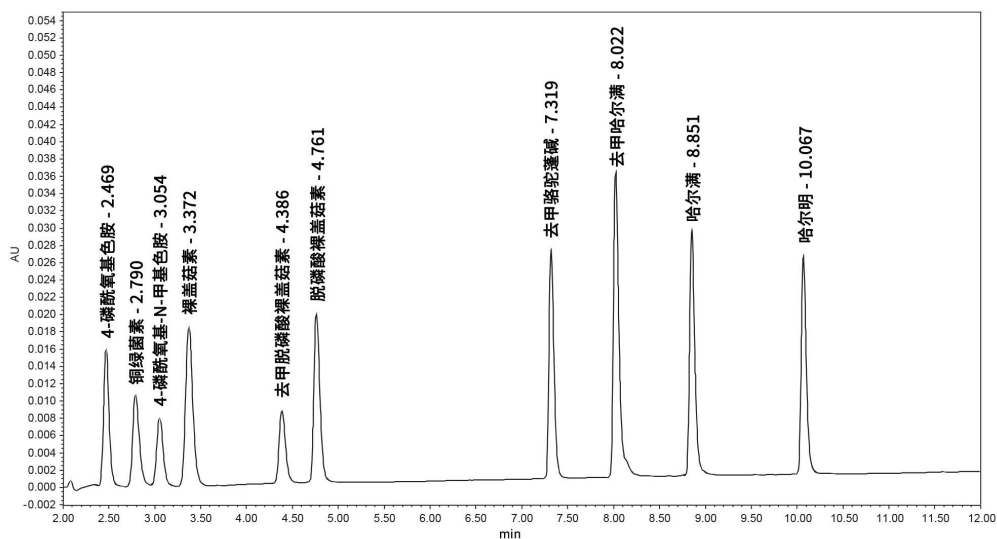


图2. 在采用MaxPeak HPS技术的Arc Premier系统和色谱柱上运行最终方法生成的代表性色谱图。

所有已知化合物在基线处测得的USP色谱分离度值均接近2。研究发现，所有峰的峰拖尾均满足要求，仅去甲哈尔满化合物的拖尾因子大于1.5。表1列出了每种化合物在采用MaxPeak HPS技术的Arc Premier系统和色谱柱上得到的分离度和拖尾因子。

色谱峰特征		
组分	分离度	拖尾
铜绿菌素	2.56	1.43
4-磷酸氧基-N-甲基色胺	1.95	1.17
去甲骆驼蓬碱	23	1.34
哈尔满	7.8	1.39
哈尔明	11.84	1.36
4-磷酸氧基色胺	NA	1.24
去甲哈尔满	6.77	1.62
去甲脱磷酸裸盖菇素	7.38	1.23
脱磷酸裸盖菇素	3.02	1.32
裸盖菇素	2.27	1.2

表1.在Arc Premier系统上运行最终方法得到的色谱峰分离度和拖尾

## MaxPeak HPS与标准表面技术

为评估MaxPeak HPS技术的影响，在配备标准色谱柱的标准不锈钢ACQUITY Arc系统上运行了相同的分析，所得的色谱图见图3。与标准不锈钢相比，使用MaxPeak HPS技术时，此分析中化合物的色谱峰高和峰面积都有所增加。值得注意的是，使用MaxPeak HPS技术时，去甲哈尔满的峰高、峰面积显著增加，拖尾因子从2.3降至1.6。

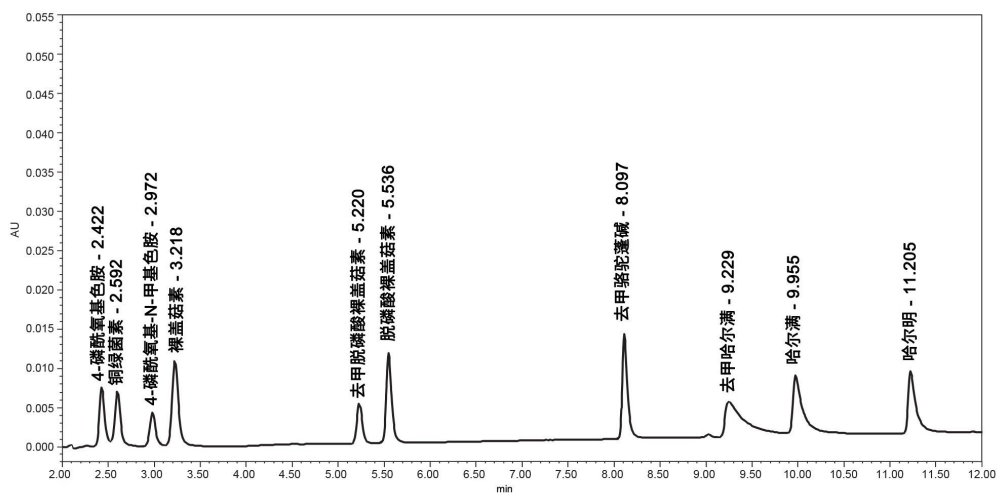


图3.在采用标准不锈钢硬件和色谱柱的ACQUITY Arc系统上运行最终方法得到的代表性色谱图

我们在两种HPLC配置上使用该方法运行了十次重复进样。实验结果见表2和表3。计算结果表明，该技术可以降低色谱峰面积和峰高的相对标准偏差，从而提高方法的重现性。

MaxPeak HPS配置与不锈钢HPLC配置的色谱峰面积比较						
组分	平均峰面积响应 (10次进样)			平均峰面积%RSD (10次进样)		
	HPS	不锈钢 (SS)	HPS峰面积/SS峰面积	HPS	不锈钢 (SS)	HPS/SS
铜绿菌素	56966	30311	188%	0.8	1.4	57%
4-磷酸氧基-N-甲基色胺	41167	19294	213%	0.6	1.8	33%
去甲骆驼蓬碱	99810	52215	191%	0.4	1.8	22%
哈尔满	112157	49021	229%	0.6	2.3	26%
哈尔明	95821	44069	217%	0.6	1.9	32%
4-磷酸氧基色胺	72071	31817	227%	1.1	1.5	73%
去甲哈尔满	148642	34896	426%	0.6	7.1	8%
去甲脱磷酸裸盖菇素	40189	21097	190%	0.6	2	30%
脱磷酸裸盖菇素	88751	46678	190%	0.4	1.8	22%
裸盖菇素	101713	52794	193%	0.4	1.8	22%

表2.在标准不锈钢表面与MaxPeak HPS表面上分析得到的色谱峰面积比较



MaxPeak HPS配置与不锈钢HPLC配置的色谱峰高比较						
组分	平均峰高响应 (10次进样)			平均峰高%RSD(10次进样)		
	HPS	不锈钢 (SS)	HPS峰高/SS峰高	HPS	不锈钢 (SS)	HPS/SS
铜绿菌素	10882	7130	153%	0.5	1.4	36%
4-磷酸氧基-N-甲基色胺	8176	4330	189%	0.4	1.4	29%
去甲骆驼蓬碱	26570	13461	197%	0.5	1.8	28%
哈尔满	28455	7396	385%	0.7	2.4	29%
哈尔明	25370	7895	321%	0.6	2.1	29%
4-磷酸氧基色胺	16316	7778	210%	0.4	1.4	29%
去甲哈尔满	35524	4026	882%	0.7	2.6	27%
去甲脱磷酸裸盖菇素	8388	5198	161%	0.4	1.8	22%
脱磷酸裸盖菇素	19638	11499	171%	0.4	1.8	22%
裸盖菇素	18580	11023	169%	0.4	1.5	27%

表3.在标准不锈钢表面与MaxPeak HPS表面上分析得到的色谱峰高比较

## 结论

我们开发出一种在15分钟内快速完成基线分离的方法，用于分离致幻蘑菇中的10种化合物。这些化合物的药用价值近来受到研究人员的广泛关注，包括裸盖菇素、相关色胺类和 $\beta$ -咔啉类化合物。该方法已在配备XSelect Premier HSS T3色谱柱的Arc Premier HPLC系统上以甲醇作为强溶剂成功运行。使用甲醇代替乙腈提供了一种更加环保的HPLC方法。与标准不锈钢HPLC配置相比，使用MaxPeak HPS技术时观察到一般色谱性质有显著改善。使用MaxPeak HPS使色谱峰面积和峰高分别增加高达426%和882%。

## 参考资料

1. M. Lauber, T. H. Walter, M. Gilar, M. DeLano, C.Boissel, K. Smith, R. Birdsall, P. Rainville, J. Belanger, K. Wyndham.基于MaxPeak高性能表面(HPS)的低吸附HPLC色谱柱。沃特世白皮书。2023, 720006930ZH <<https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404>> .
2. R. Irizarry, A. Winczura, O. Dimassi, A. Minhas, J. Larice.Psilocybin as a Treatment for Psychiatric Illness: A Meta-Analysis. *Cureus*.2022, 14(11): e31796.

3. W. R. Smith, P. S. Appelbaum. Two Models of Legalization of Psychedelic Substances. *JAMA*. 2021, 326(8): 697–698.
  4. M. W. Beug, J. Bigwood. Psilocybin and Psilocin Levels in Twenty Species From Seven Genera of Wild Mushrooms in the Pacific Northwest, U.S.A. *Journal of Ethnopharmacology*. 1982, 5(3): 271–285.
  5. A. Sherwood, A. Halberstadt, A. Klein, J. McCorvy, K. Kaylo, R. Kargbo, P. Meisenheimer. Synthetic and Biological Evaluation of Tryptamines Found in Hallucinogenic Mushroom: Norbaeocystin, Baecocystin, and Aeruginascin. *J Nat Prod* 2020, 83: 461–467.
  6. F. Blei, S. Dorner, J. Fricke, F. Bladeweg, F. Trottmann, A. Komor, F. Meyer, C. Hertweck, D. Hoffmeister. Simultaneous Production of Psilocybin and a Cocktail of B-Carboline Monoamine Oxidase Inhibitor in “Magic” Mushrooms. *Chem Eur J*. 2020, 26: 729–734.
  7. C. Lenz, J. Wick, D. Hoffmeister. Identification of  $\omega$ -N-Methyl-4-hydroxytryptamine (Norpsilocin) as a Psilocybe Natural Product. *J Nat Prod*. 2017, 80: 2835–2838.
- 

## 特色产品

ACQUITY Arc系统 <

<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/acquity-arc-system.html>>

Arc Premier系统 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/arc-premier-system.html>>

ACQUITY QDa II质谱检测器 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry/mass-spectrometry-systems/acquity-qda-ii-mass-detector.html>>

2998光电二极管阵列(PDA)检测器 <

<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-detectors/2998-photodiode-array-pda-detector.html>>

Empower色谱数据系统(CDS) <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and-software/chromatography-software/empower-software-solutions/empower-cds.html>>

---

720008442ZH, 2024年7月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie](#)  
[设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)