SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

イメージング質量顕微鏡　iMScope™ QT

iMScope QTを用いた生薬における有効成分の分布解析と品質評価

Zhenhe Chen[1], Takushi Yamamoto, Kaoru Nakagawa[2], Yongli Liu[3], Keisuke Shima[1], Jing Dong[1], Xiaodong Li[1]
1.Shimadzu China Innovation Center, Shimadzu (China) Co., Ltd　2. Solutions COE, Shimadzu Kyoto,
3. Hebei Institute for Drug and Medical Device Control

ユーザーベネフィット

◆ MSイメージングによって、レンギョウ（生薬）から53種の有効成分の分布が確認されました。
◆ 産地が異なるレンギョウの実をMSイメージングすることにより、その品質を評価できました。

■はじめに

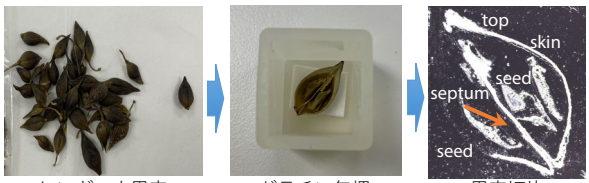
レンギョウ（*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl）の果実は伝統的な漢方薬であり、顕著な抗炎症作用、抗菌作用、抗ウイルス作用が証明されています。その医薬品有効成分には、リグナン、フェニルエタノール配糖体、フラボノイド、有機酸などが含まれます。レンギョウの果実は漢方製剤「連花清瘟（れんかせいおん）カプセル」の主成分として、Covid-19の感染やその他の風邪症状の治療に用いられています。レンギョウの熟した果実と緑色の果実は効能が異なり、どちらも中国薬局方に収載されています（2020年）。また、有効成分の含有量は、収穫時期、産地、栽培方法（野生/栽培）によって異なります。従来、有効成分の含有量はGC-MSやLC-MS法で評価されてきましたが、その分布情報は不明です。そこで、MSイメージングを用いて有効成分の分布解析を行いました。

■レンギョウ切片の作成

レンギョウの果実は、2019年から2022年にかけて中国の3つの有名な生息地から入手しました（表1）。中国薬局方（2020年版）によると、レンギョウの果実は天日干しで乾燥させた後、薬として使用されます。レンギョウの果実にはハート型のような空洞があり、熟した果実の色は黒色で、熟す前の果実の色は灰緑色です。切片作成に際しては、まず、レンギョウの果実を繊維に沿って半分に分割しました。果実には主に果皮、種子、隔壁で仕切られた2つの区画があります（図1）。半分に切った果実を10%ゼラチンにそのまま包埋しましたが、ゼラチンが果実の微小な隙間にまで入り込むことができなかったため、元の形を完全に保った状態で切片作成することができませんでした。そこで、半分に切ったレンギョウの果実から種子を慎重にいったん取り出し、果実のみをゼラチンに埋めてゼラチンが内部まで浸透するのを待ちました。ゼラチンが固まる前に種子を果実の元の位置に戻し、-80℃で2時間かけて凍結させた後、クリオスタット（CM1950Leica、ドイツ）を用いて15 μmの厚さの切片を作成しました。

表1　レンギョウの実の収穫地と収穫時期

果実＼収穫地		山西省　曹川	河南省　洛寧	河北省　邯鄲
熟す前の果実	野生	3	1	2
	栽培	2	—	—
	収穫時期	2022年7月	2022年9月	2019年8月
熟した果実	野生	2	—	1
	栽培	—	—	—
	収穫時期	2020年10月	—	2019年10月



レンギョウ果実　ゼラチン包埋　果実切片

図1　レンギョウの実の切片作成

■MSイメージング分析条件

顕微鏡を備え大気圧MALDIとQ-TOF型質量分析計が一体化したイメージング質量顕微鏡iMScope QT（図2）を用いて、対物倍率10倍で顕微鏡観察を行い、表2に示す分析条件でMSイメージングを実施しました。マトリックス塗布には、マトリックス蒸着装置iMLayer™（図3）を用いて、ポジティブイオンモード用にDHBを、ネガティブイオンモード用に9-AAを蒸着しました。MSイメージの作成や統計解析などのデータ解析は、MSイメージングデータ解析ソフトウェアIMAGEREVEAL™ MSを用いて行いました。

図2　質量顕微鏡iMScope™ QT

図3　マトリックス蒸着装置iMLayer™

表 2　MSイメージング分析パラメータ

ピッチ（空間分解能）	：	10 µm or 20 µm
DL温度	：	250℃
ヒートブロック温度	：	450℃
極性	：	正イオン or 負イオン
質量範囲	：	*m/z* 100 - 500 or 500 - 1000
検出器電圧 *1	：	2.35 kV
繰り返し周波数	：	2 kHz
レーザー径設定値	：	1 or 2
レーザーショット数	：	100 shots
レーザー強度	：	55 - 68

*1：参考値
（最適な検出器電圧は、検出器の劣化具合とサンプルのイオン化のしやすさにより異なります。検出器電圧の設定によっては検出器の劣化を早める可能性があります。詳しくは取扱説明書をご参照ください。）

■有効成分のスクリーニング

文献を調査したところ、 レンギョウの果実には、125種類以上の有効成分が報告されていることが分かりました[1)]。それらの理論上の質量値をデータ解析用のスクリーニングリストとしてまとめました。表3 に、ポジティブイオンモードおよびネガティブイオンモードでのMSイメージングにおいて検出された化合物の数を示しました。

表 3　MSイメージングで検出された有効成分の数

極性	*m/z* 100-500	*m/z* 500-1000	Total
Positive (+)	>27	>16	>43
Negative (-)	>22	>6	>28

■レンギョウの有効成分の分布

IMAGEREVEAL MSのスクリーニング機能により、ポジティブイオンモードで43種類以上、ネガティブイオンモードで28種類以上の有効成分が検出されたことを確認しました（表3）。両モードで重複する化合物を除外すると、合計53種の化合物が検出できました。図4は、ポジティブイオンモードで果実上部で検出された 12 種の化合物を示し、図5は、ネガティブイオンモードで果皮付近で検出された8種の化合物を示しています。化合物の中には、どちらかの測定モードでのみ検出されたものがありました。たとえば、フォルシソシドAはポジティブイオンモードとネガティブイオンモードの両方で検出できますが、フォルシチンはポジティブイオンモードでのみ検出できます（図4 および 5）。また、有効成分が果実内に均一に分布していないこともわかりました（図4および5）。フォルシソシドAとレンギョールは果実上部に均等に分布していませんが、フォルシチンは均等に分布しているように見えます（図4）。ネガティブイオンモードでは、オレイン酸および/またはウルソール酸は果皮の外側部分にのみに分布していました。対照的に、サスペンサシドAは果実の皮に均一に分布していました（図5）。

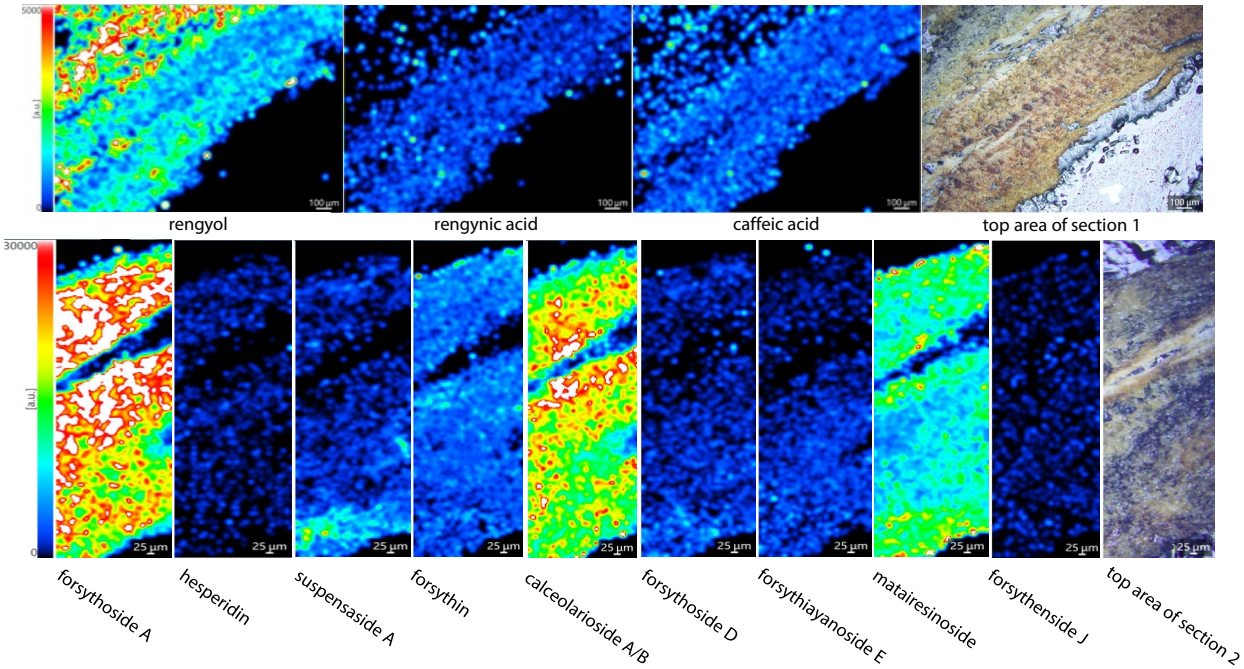


図 4　ポジティブイオンモードで検出された果実上部の有効成分

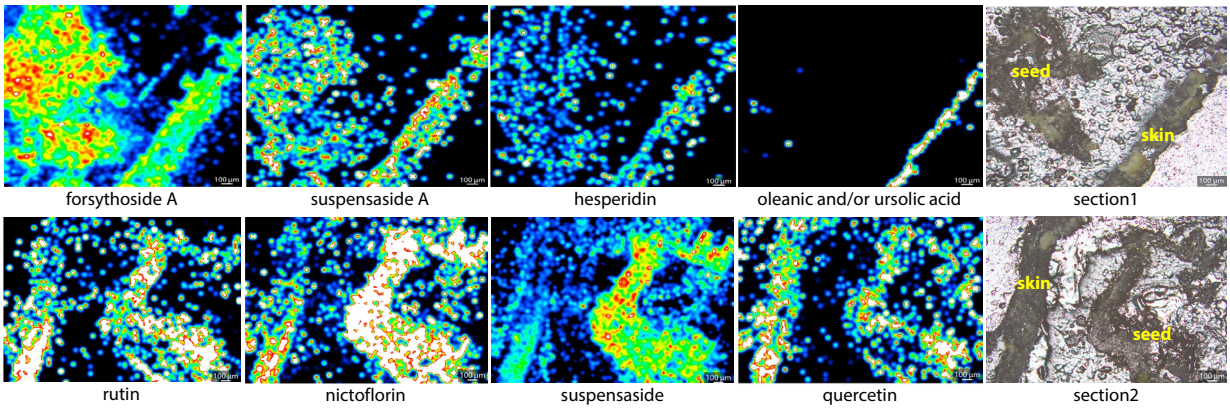


図 5　ネガティブイオンモードで検出された果皮付近の有効成分

検出されたイオンを化合物推定するために18 種の標準品を準備しました。フォルシソシドAの理論上の断片化過程の構造式を図6Cに示しました。 *m/z* 623.1989をプリカーサにした切片のMS/MSスペクトルパターンはフォルシソシドA標準品のMS/MSスペクトルとほぼ一致しました（図6Aおよび図6B）。*m/z* 623.1989 はフォルシソシドAと同じプリカーサイオンとプロダクトイオンを有するため、フォルシソシドAであると考えられ、プリカーサイオンと理論値との質量誤差は1.28 ppmでした（図6）。残りの化合物推定も同様の方法で行いました（データの詳細は割愛します）。

これら既知の有効成分以外にも、未知の化合物が果実中に見つかる可能性があります（図7）。それらのほとんどは種子の皮の中に分布しており、一部は主に種子の中に分布していました。しかし、これらの化合物の同定には至りませんでした。

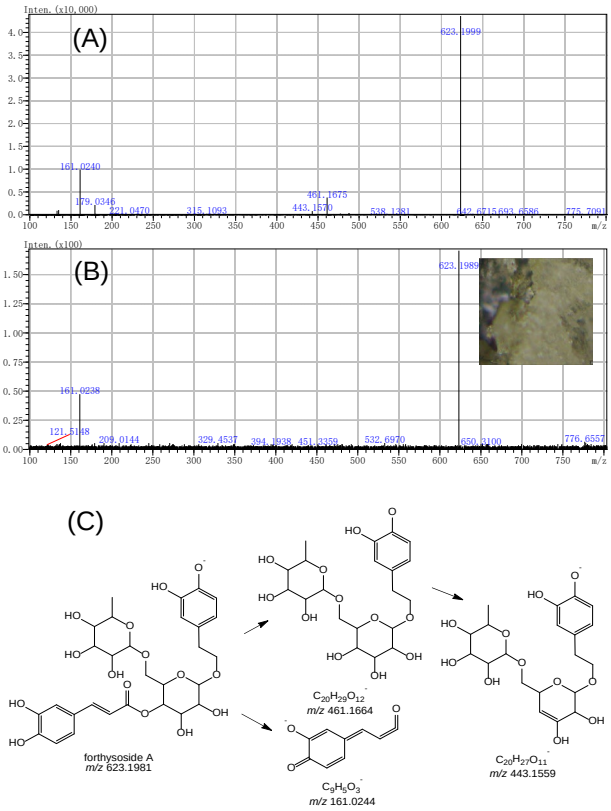


図6　フォルシソシドA のMS/MSスペクトル
A：標準品のMS/MSスペクトル
B：切片のMS/MSスペクトル
C：フォルシソシドA の理論上の断片化

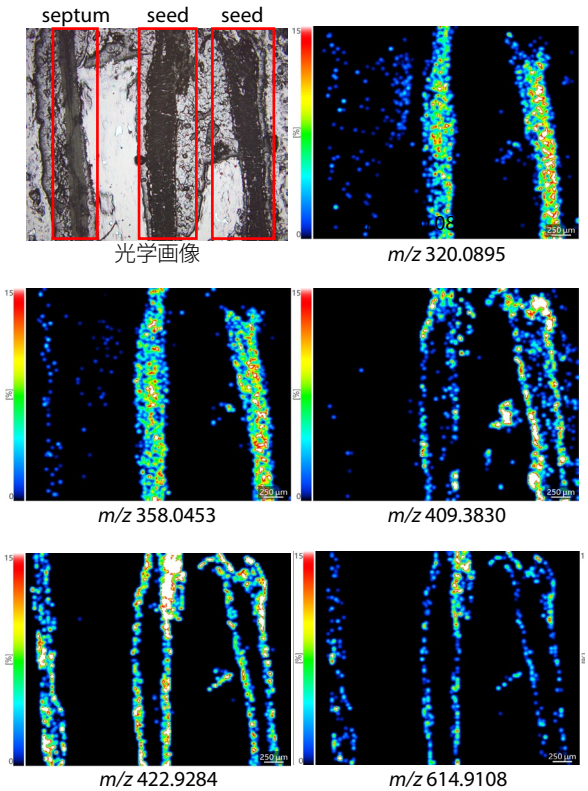


図7　検出されたが同定に至らなかったレンギョウ中の化合物

■まとめ

本研究では、MSイメージングを用いて*F.suspensa*の医薬品有効成分の分布を評価しました。*F.suspensa*の果実から、AP-MALDIイメージングのポジティブイオンモードとネガティブイオンモードで、合計53種類の医薬品有効成分が検出されました。これらの有効成分は、*F.suspensa*のサブセクションに特異的に分布していることが分かりました。MSイメージングは*F.suspensa*果実の迅速かつ合理的な品質評価に有効な技術であると期待できます。

＜参考文献＞

1) Y. Liu, C. Wang, Z. Chen, H. Yuan, R. Lei, X. Li, S. Ma, C. Liu, “Distribution of active ingredients and quality control of Forsythia suspensa with AP-MALDI mass spectrometry imaging,” J Mass Spectrom. 2024 Aug;59(8):e5073.

＜謝辞＞

本アプリケーションニュースは、河北省医薬品医療機器検査研究所等との共同研究を通じて得られた成果を基に作成しました。心よりお礼申し上げます。

iMScope、iMLayer、およびIMAGEREVEALは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所　分析計測事業部
https://www.an.shimadzu.co.jp/　01-00890-JP　初版発行：2025年 9月

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

© Shimadzu Corporation, 2025

アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。

iMScope™ QT

関連分野

食品・飲料

栄養・機能性成分

価格お問い合わせ

製品お問い合わせ

技術お問い合わせ

その他お問い合わせ