



# 液质联用定量分析三种中药材中的重要成分

## No.LCMS-009

**摘要：**建立了使用岛津液质联用系统分别测定三种中药材中重要成分的分析方法。使用仪器为岛津UFLCXR和LCMS-2020，三种成分分别是千里光药材中生物碱adonifoline，金钗石斛药材中石斛碱dendrobine，川楝子药材和饮片中三萜川楝素toosendanin。

中药材质量标准的建立是一项长期的工作。在2010版药典中即将增加很多中药材相关的检测标准。由于中药材中成分复杂，分析时干扰大，因此在用传统的紫外检测器分析中药材中某些成分时遇到挑战，而用液质联用则可以很好地进行定性和定量分析。本文用液质联用的方法分析了千里光药材中的有毒成分 – 生物碱adonifoline，金钗石斛药材中的特征成分 – 石斛碱dendrobine，川楝子药材和饮片中的有效且有毒成分 – 三萜川楝素toosendanin，并针对要申报药典方法的这三个项目进行了方法验证，取得了可靠的结果。

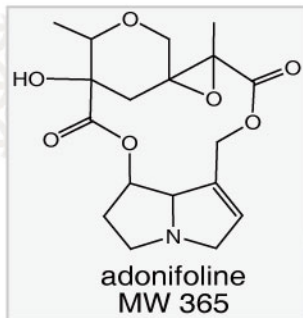
**关键词：** LC-MS 液质联用 千里光 adonifoline 金钗石斛 dendrobine 川楝子 toosendanin

### ■ 仪器配置

LC-20ADXR × 2(流动相输液泵)，DGU-20A3(在线脱气机)，SIL-20ACXR(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-2020(单四级杆质谱仪)，LCMSsolution V5.0(色谱工作站)。

### ■ 分析方法和结果

#### 1. 千里光药材中生物碱adonifoline的内标法定量分析



Structure of adonifoline, Mw 365



Structure of monocrotaline(internal standard), MW 325

#### 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(TSK-gel ODS-140HTP 2.1 × 50 mm, 2.3 μm)；以0.5%甲酸为流动相A，以乙腈为流动相B，按下表进行梯度洗脱。流动相流速为0.2 mL/min，柱温为30℃，进样体积2 μL。

Time(min)	Module	Command	Value(%)
0	Pumps	Pump B Conc.	7
2.50	Pumps	Pump B Conc.	7
3.50	Pumps	Pump B Conc.	7
5.50	Pumps	Pump B Conc.	90
9.00	Controller	Stop	7

## 质谱条件

以LCMS-2020为检测器，按下表参数进行检测。定性时扫描范围 $m/z$ 150-500，定量时SIM离子366.1和326.1。

ESI Mode	positive	DL Temperature	250°C
Event Time	0.1 S	Heat Block Temperature	450°C
Detector Voltage	1.05 kV	Nebulizing Gas Flow	1.5 L/min
Interface Voltage	4.5 kV	Drying Gas Flow	10 L/min

## 内标溶液的制备

精密称取野百合碱（monocrotaline）对照品适量，加0.5%甲酸水制成每1 ml含200 ng标准品的溶液，即得。

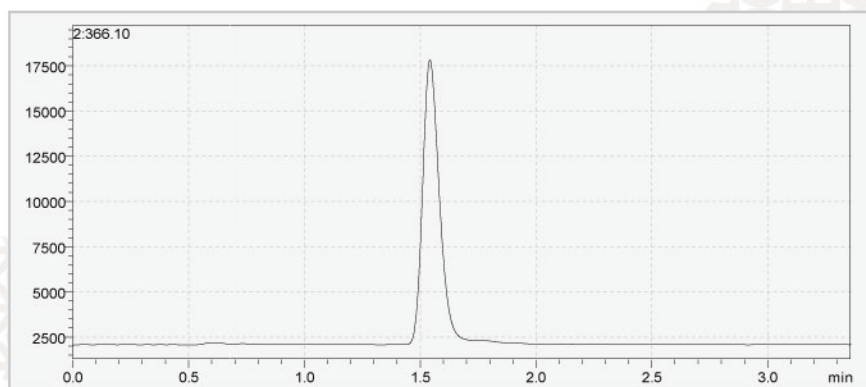
## 对照品溶液制备

精密称取生物碱对照品适量，加0.5%甲酸水溶液制成每1ml含生物碱50ng的溶液。精密量取该溶液4ml和内标溶液1ml，摇匀，即得。

## 供试品溶液制备

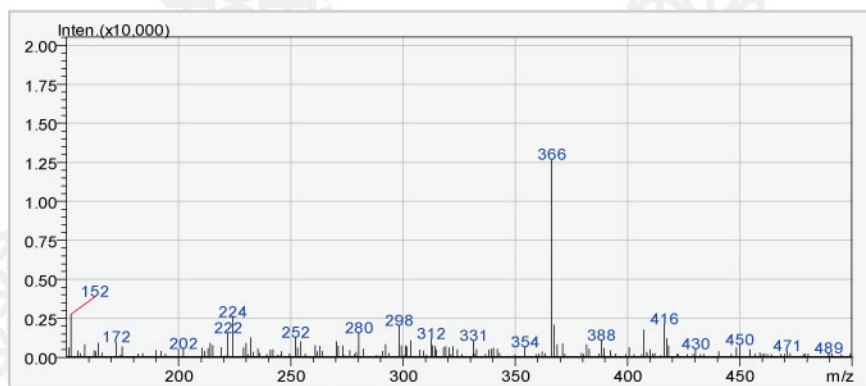
取本品粉末（50目）约0.2g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入0.5%甲酸水100 mL，称定重量，超声提取40 min，放冷，再称定重量，用0.5%甲酸水补足减失的重量，摇匀。精密量取上清液4ml置5ml量瓶中，加内标溶液至刻度，摇匀，过滤，取续滤液2  $\mu$ L注入液相色谱仪，按内标法以峰面积计算，即得。

## 结果图谱

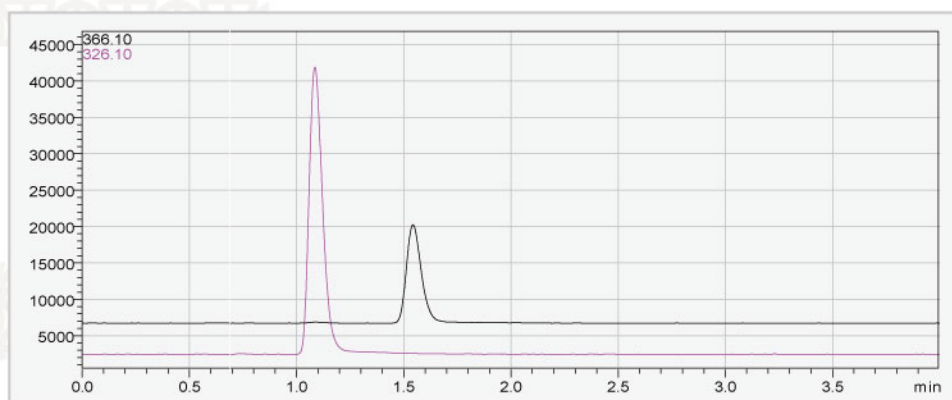


adonifoline标样SCAN模式EIC图

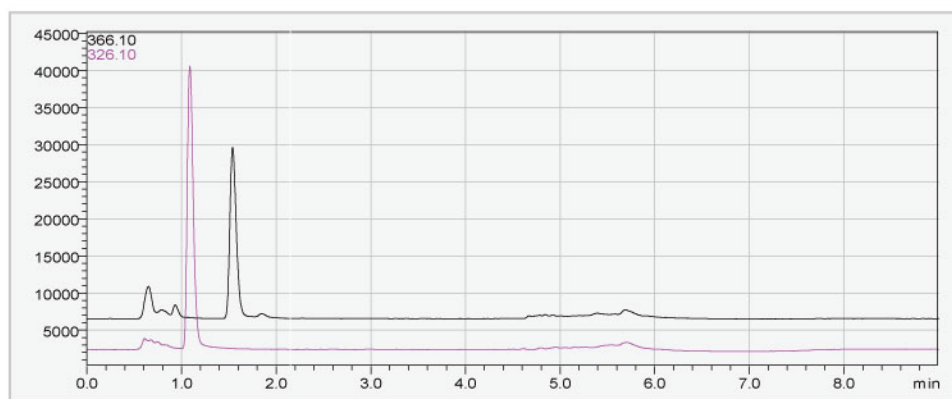
(由于样品浓度过低，故在TIC图上出峰不明显，因此显示EIC图)



adonifoline标样SCAN模式质谱图



adonifoline SIM模式色谱图



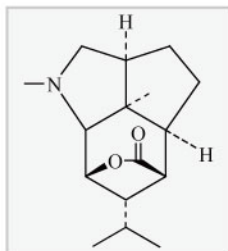
QLQ-1-1样品SIM模式色谱图

样品测定结果列表(每个标样进2针, 每个样品前处理两次, 得到的溶液各进2针)

编号	样品说明	药材量 (g)	目标峰面积 (avg)	内标峰面积 (avg)	含量(μg/g)
QLG-std-1	对照品(40.12 ng/mL)	—	45954	175057	—
QLG-std-1	对照品(58.28 ng/mL)	—	66461	194077	—
QLG-1-1	宝华山样品	0.2064	108954	168701	50.9
QLG-1-2	宝华山样品	0.2029	106715	149135	57.3
QLG-1-3	宝华山样品	0.2011	89295	149126	48.4
QLG-1-4	宝华山样品	0.2007	86886	163528	43.0
QLG-2-1	西山样品	0.2016	ND	—	ND
QLG-2-2	西山样品	0.2010	ND	—	ND
QLG-3-1	菊花村样品	0.2016	ND	—	ND
QLG-3-2	菊花村样品	0.2020	ND	—	ND

注: 西山、菊花村样品低于检测限(1 ng/mL), 未检出。

## 2. 金钗石斛药材中生物碱石斛碱dendrobine的定量分析



Structure of dendrobine, Mw 263

### 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(TSK-gel ODS-140HTP 2.1 × 50 mm, 2.3 μm); 以0.05%甲酸为流动相A, 以乙腈为流动相B, 按下表进行梯度洗脱。流动相流速为0.2mL/min, 柱温为30 °C, 进样体积2 μL。

Time(min)	Module	Command	Value(%)
0	Pumps	Pump B Conc.	15
3.50	Pumps	Pump B Conc.	15
3.60	Pumps	Pump B Conc.	90
5.10	Pumps	Pump B Conc.	90
5.20	Pumps	Pump B Conc.	15
10.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

以LCMS-2020为检测器, 与生物碱adonifoline相同参数进行检测。定性时扫描范围m/z150-400, 定量时SIM离子264.2。

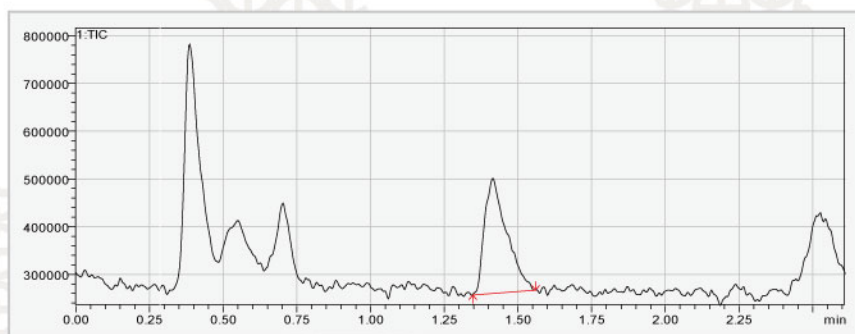
### 对照品溶液制备

精密称取石斛碱对照品适量, 加0.1%甲酸-甲醇(8:2)制成每1ml含石斛碱250ng的溶液, 即得。对照品溶液临用新配, 避光保存。

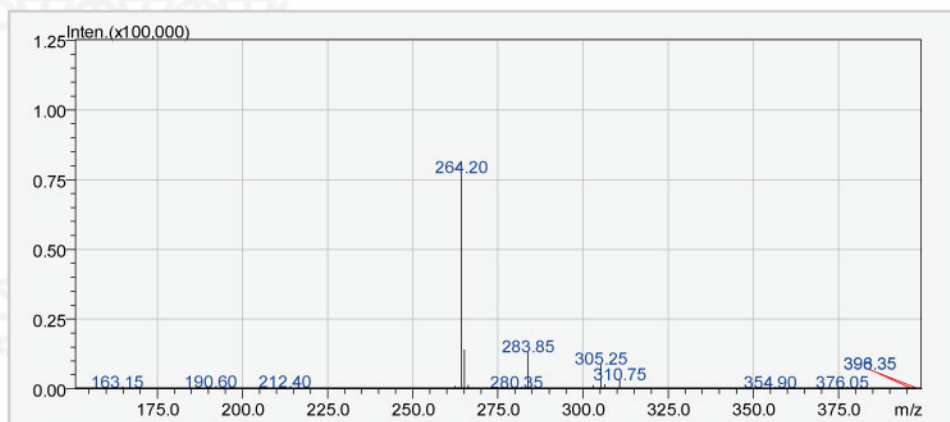
### 供试品溶液的制备

取本品粉末(60目)约0.25g, 精密称定, 置具圆底烧瓶中, 精密加入甲醇50mL, 称定重量, 70°C热回流提取3hr, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 过滤。精密量取1mL续滤液, 置于100mL容量瓶中, 用0.1%甲酸-甲醇(8:2)定容, 溶液用微孔滤膜(0.22 μm)过滤, 取续滤液作为供试品溶液测定。(样品浓度约为250 ng/mL)

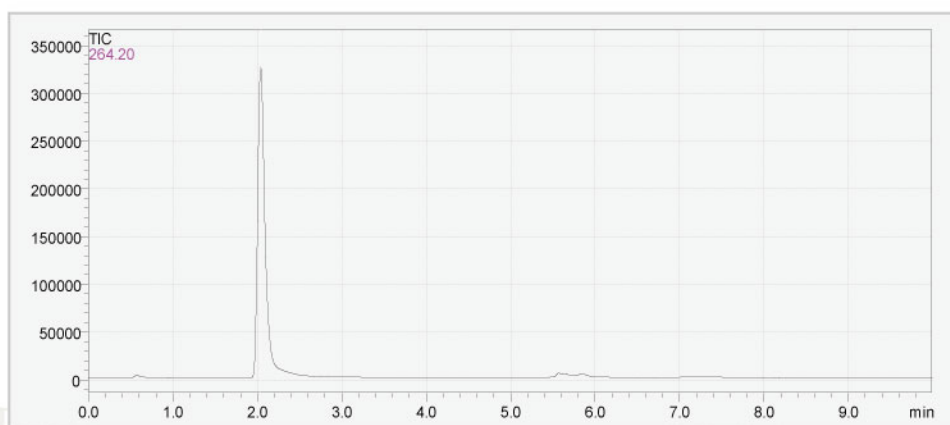
### 结果图谱



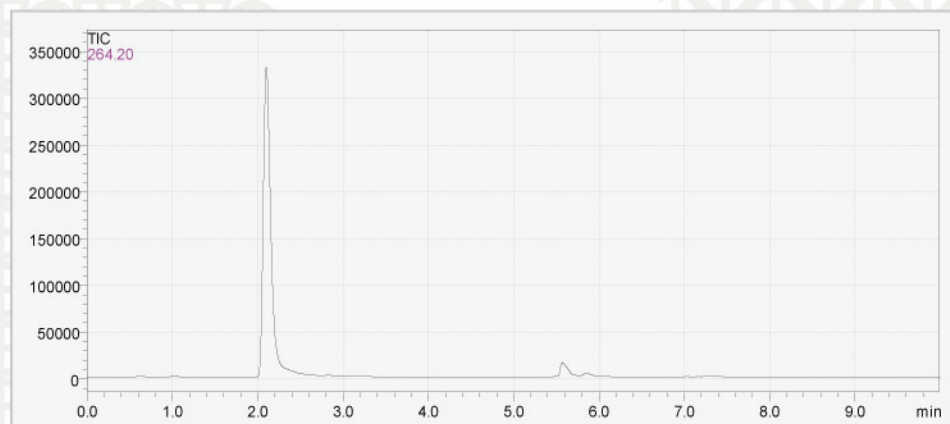
dendrobine标样SCAN模式TIC图(流速0.3 mL/min)



dendrobine标样SCAN模式质谱图



dendrobine标样SIM模式色谱图



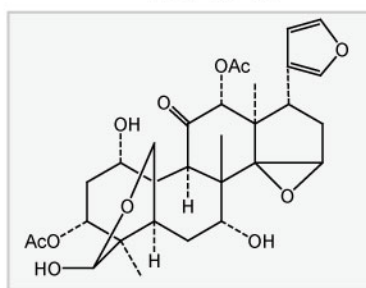
SH-1-1样品SIM模式色谱图

样品测定结果列表(每个标样进2针, 每个样品前处理两次, 得到的溶液各进2针)

编号	样品说明	药材量 (g)	峰面积(ave)	含量(mg/g)
SH-std	对照品(250 ng/mL)	—	2033265	—
SH-1-1	03-1	0.2498	2094744	5.16
SH-1-2	03-2	0.2490	2062326	5.09
SH-2-1	07-1	0.2506	1468133	3.60
SH-2-2	07-2	0.2507	1461671	3.58
SH-3-1	18-1	0.2502	1390365	3.42
SH-3-2	18-2	0.2503	1391422	3.42

注: 西山、菊花村样品低于检测限(1 ng/mL), 未检出。

### 3. 川楝子药材和饮片中三萜川楝素toosendanin的定量分析



Structure of Toosendanin, formula  $C_{30}H_{48}O_{11}$  MW 574

#### 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(TSK-gel ODS-140HTP 2.1 × 50 mm, 2.3 μm); 以0.01%甲酸为流动相A, 以乙醇为流动相B, 按下表进行梯度洗脱。流动相流速为0.2 mL/min, 柱温为40°C, 进样体积2 μL。

Time(min)	Module	Command	Value(%)
0	Pumps	Pump B Conc.	31
3.50	Pumps	Pump B Conc.	31
3.60	Pumps	Pump B Conc.	90
5.10	Pumps	Pump B Conc.	90
5.20	Pumps	Pump B Conc.	31
10.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

以LCMS-2020为检测器, 按下表参数进行检测。定性时扫描范围m/z150-400, 定量时SIM离子573.2。

ESI Mode	negative	DL Temperature	250°C
Event Time	0.1 S	Heat Block Temperature	450°C
Detector Voltage	1.05 kV	Nebulizing Gas Flow	1.5 L/min
Interface Voltage	4.5 kV	Drying Gas Flow	10 L/min

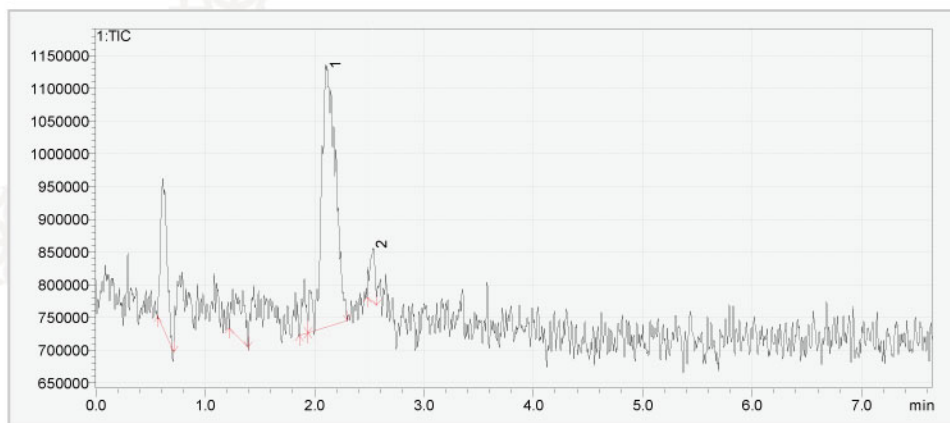
#### 对照品溶液制备

精密称取川楝素对照品适量, 加甲醇制成每1ml含川楝素2 μg的溶液, 即得。对照品溶液临用新配, 避光保存。

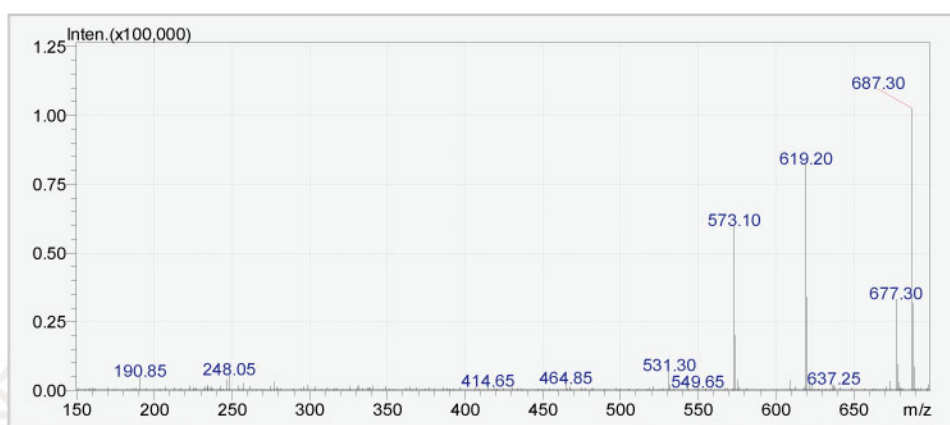
#### 供试品溶液的制备

取本品粉末(60目)约0.25g, 精密称定, 置具圆底烧瓶中, 精密加入甲醇50 mL, 称定重量, 70°C热回流提取1 hr, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀。溶液用微孔滤膜(0.22 μm)过滤, 取续滤液作为供试品溶液测定。(样品浓度约为2 μg/mL)

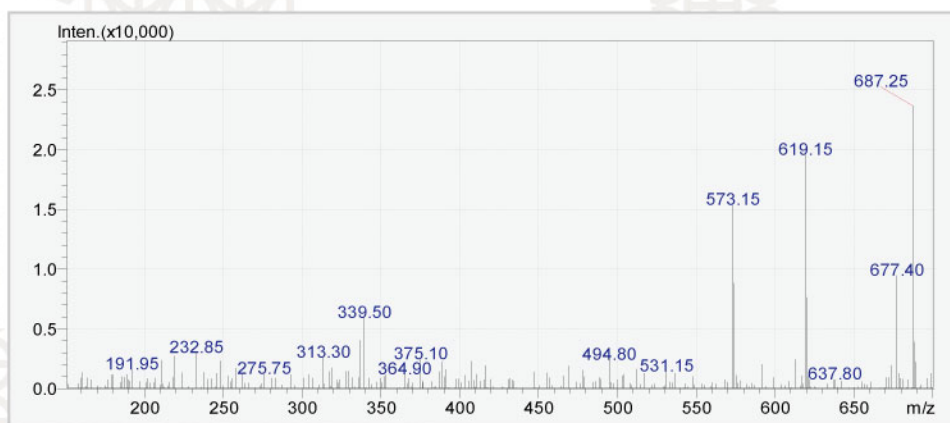
## 结果图谱



Toosendanin标样SCAN模式TIC图

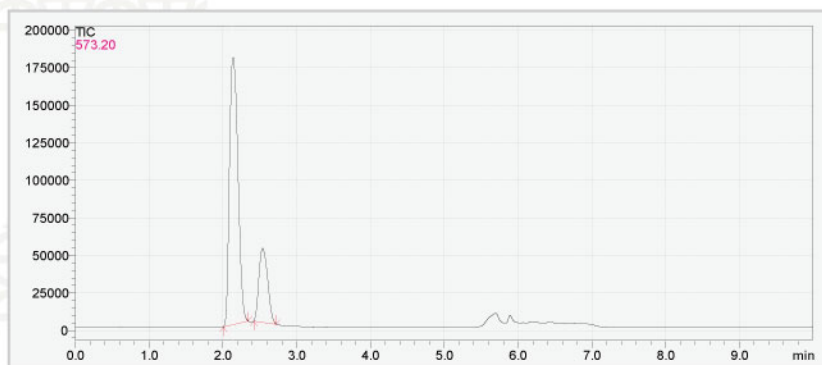


Toosendanin标样SCAN模式Peak1质谱图



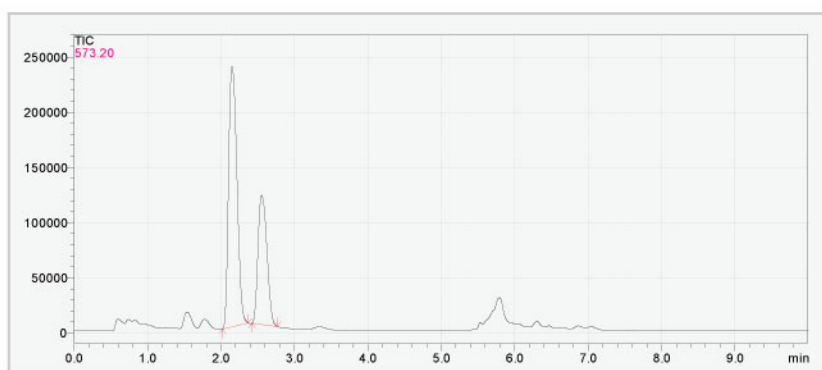
Toosendanin标样SCAN模式Peak2质谱图

(可见Peak1和Peak2是同分异构体)



Toosendanin标样SIM模式色谱图

(注: 川楝素Toosendanin存在互变异构, 以2峰的峰面积加合计算)



Clz-s-1-1样品SIM模式色谱图

样品测定结果列表(每个标样进2针, 每个样品前处理两次, 得到的溶液各进2针)

编号	样品说明	药材量 (g)	峰面积(ave)	含量(mg/g)
Clz-std	对照品(2 $\mu$ g/mL)	—	1893698	—
Clz-s-1-1	生品-荆门-1	0.2499	2968571	0.626
Clz-s-1-2	生品-荆门-2	0.2501	3043430	0.643
Clz-s-2-1	生品-沪滇-1	0.2501	5858342	1.24
Clz-s-2-2	生品-沪滇-2	0.2499	5807712	1.23
Clz-s-3-1	生品-成都-1	0.2500	6051107	1.28
Clz-s-3-2	生品-成都-2	0.2499	6009185	1.27
Clz-c-1-1	炒品-南京-1	0.2501	4874567	1.03
Clz-c-1-2	炒品-南京-2	0.2500	4761945	1.01
Clz-c-2-1	炒品-扬州-1	0.2500	1570537	0.332
Clz-c-2-2	炒品-扬州-2	0.2503	1564251	0.330
Clz-c-3-1	炒品-云南-1	0.2501	6092745	1.29
Clz-c-3-2	炒品-云南-2	0.2502	6603488	1.39

## 结论

使用岛津UFLCXR和LCMS-2020液质联用系统, 可以对以上三种中药材进行准确的定性和定量分析。岛津的超快速液质联用系统具有分析速度快, 灵敏度高的优点, 是药典方法开发和验证的得力工具。