

LCMS 测定川楝子中川楝素的含量

LCMS-044

摘要： 本文利用岛津公司新型小型化单四极杆液质联用仪，对川楝子中川楝素的含量进行测定。在 0.2~10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数大于 0.999，方法检出限为 0.018 $\mu\text{g/mL}$ 。0.2 $\mu\text{g/mL}$ 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 0.97%。三个浓度水平的加标回收率为 91.16%~103.04%。该方法灵敏度高，重复性好，能够有效的测定川楝子中川楝素的含量。

关键词： 川楝子 川楝素 液质联用法

技术特点：

- ❖ 此方法测定中药中的川楝素，干扰少，准确性好，更适用于中药领域用户使用。
- ❖ 灵敏度高，检出限可达 2020 版中国药典规定限度的百分之一以下。

川楝子为楝科植物川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实，收录于 2020 版中国药典中，川楝子性味苦寒，有小毒，具有疏肝泄热、行气止痛、杀虫等功能，主要用于肝郁化火，胸胁、脘腹胀痛，疝气疼痛，虫积腹痛，现代研究发现川楝子也具有杀虫、抗炎镇痛、抗肿瘤、抗肉毒素等药理作用。

川楝素为川楝子的主要活性成分，也是其主要的毒性成分，在 2020 版中国药典中规定川楝素的含量应在 0.060%~0.20% 范围内，含量过少则功效难以达到，含量过多则产生毒性。因此，川楝素的含量是中药材川楝子质量控制的关键。

据文献报道，川楝子的中川楝素可采用 LC-UV

的检测方式。但是，由于川楝素最大吸收波长为 210 nm，在分析实际药材时，药材中的复杂成分对于检测的结果干扰大。而采用 LCMS 可有效提高方法的灵敏度、准确度和抗干扰能力，并简化前处理过程，有效提高检测效率。

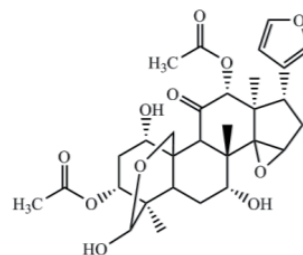


图 1 川楝素

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津单四极杆液质联用仪 LCMS-2050，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D xs × 2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C xs	质谱仪：	LCMS-2050
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.114		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Scepter C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm ，岛津(上海)实验器材有限公司，P/N: 227-31012-05)

流动相：A-0.01% 甲酸水；B- 乙腈

进样体积：2 μL

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

流速：0.4 mL/min

洗针液：甲醇 / 水 = 1:1 (v:v)

洗脱方式：等度洗脱，流动相 A/B=31/69。

质谱条件

离子化模式：ESI-	雾化气流速：2.0 L/min
接口电压：-3.5 kV	干燥气流速：5.0 L/min
脱溶剂温度：400°C	加热气流速：7.0 L/min
接口温度：300°C	D L 温度：250°C
选择离子模式：SIM m/z : 573.23	

■ 样品前处理

取川楝子中药材粉末约 0.05 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称定重量，加热回流 1 小时，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

■ 结果与讨论

3.1 川楝素标准溶液谱图

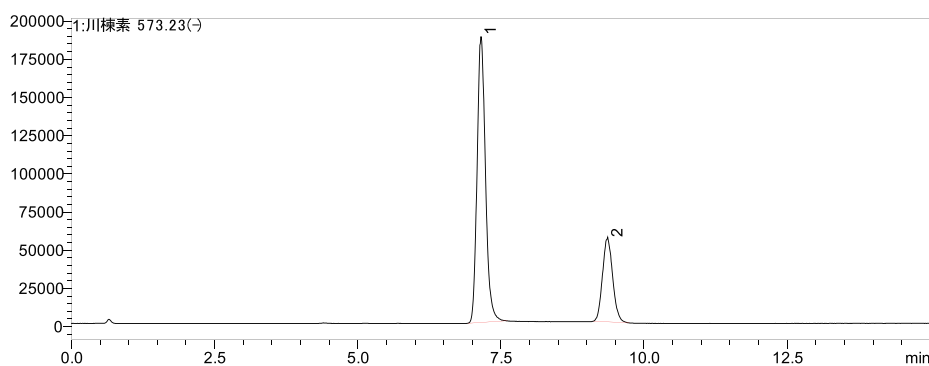


图 2 川楝素标准溶液选择性离子图 (2 μg/mL)

2020 版中国药典规定，峰 1、峰 2 均为川楝素。川楝素 1 的理论塔板数为 11112，川楝素 2 的理论塔板数为 12756，满足 2020 版中国药典中理论塔板数以川楝素峰计不低于 8000 的要求。

3.2 校准曲线和检出限

2020 版中国药典规定，川楝素的两个峰之和进行计算。配制 0.2、0.5、1、2、5、10 μg/mL 的川楝素系列浓度标准溶液，取 2 μL 进样，以浓度为横坐标，两个峰面积之和为纵坐标做标准曲线，标准曲线如图 2 所示，相关系数 (R) 为 0.9995，准确度为 93.1%~103.8%。根据 0.2 μg/mL 标样数据，以 3 倍信噪比 (峰至峰) 计算川楝素方法检出限，川楝素的方法检出限为 0.018 μg/mL，低于限度的百分之一以下。

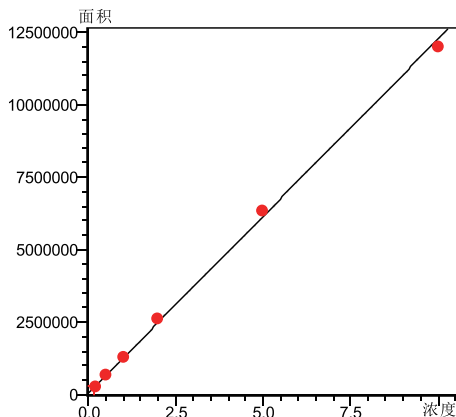


图 3 川楝素标准曲线

3.3 重复性实验

取 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的精密度，测定结果见表 1。

表 1 川楝素峰 1,2 精密度结果

序号	川楝素峰 1		川楝素峰 2	
	保留时间 min	峰面积	保留时间 min	峰面积
1	7.158	205811	9.366	71605
2	7.148	205611	9.356	73450
3	7.153	208635	9.356	73465
4	7.133	208451	9.328	72949
5	7.163	207695	9.380	73316
6	7.153	205338	9.365	73226
平均值	7.151	206924	9.359	73002
RSD%	0.15	0.73	0.18	0.97

3.4 样品含量测定

将川楝素样品按照上述前处理方法进行处理，上机进行测定，样品中川楝素选择性离子图如图 4 所示。平行测定 6 份样品含量以及考察 RSD，具体结果如表 2 所示。

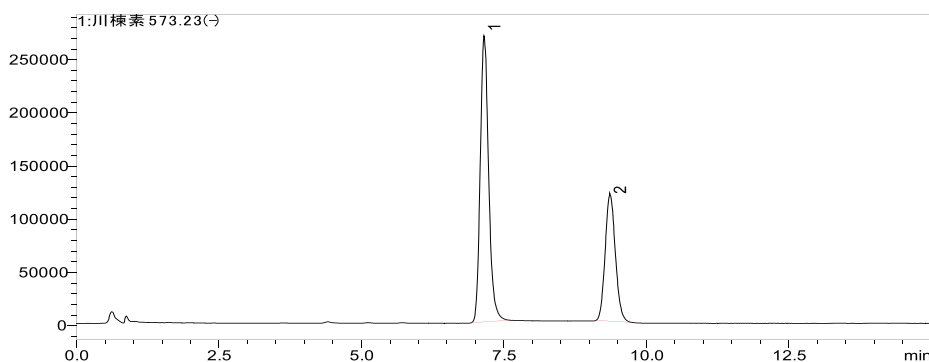


图 4 样品中川楝素的选择性离子图

表 2 6 份平行样品川楝素含量结果

名称	称样质量 g	定容体积 mL	浓度 $\mu\text{g}/\text{mL}$	含量 %	平均值 %	RSD%
平行样 1	0.0590	50.00	3.430	0.291	0.289	0.70
平行样 2	0.0591	50.00	3.435	0.291		
平行样 3	0.0591	50.00	3.407	0.288		
平行样 4	0.0589	50.00	3.383	0.287		
平行样 5	0.0592	50.00	3.397	0.287		
平行样 6	0.0590	50.00	3.441	0.292		

3.5 加标回收率

将川楝素样品中分别加入不同浓度水平的川楝素标准品，按照上述前处理方法处理，分别制备出 80 μg 、100 μg 、120 μg 三个添加水平的加标样品，平行 6 份样品考察回收率和 RSD，三个不同水平样品的加标回收率在 91.16~103.04% 范围内，RSD 结果如表 3 所示。

表 3 不同浓度水平川楝素添加回收率结果

添加量 μg	平均回收率 %	RSD%
80	93.95	0.67
100	92.94	0.70
120	101.18	0.76

■ 结论

本文利用岛津公司 LCMS-2050 单四极杆液质联用仪测定川楝子中川楝素的含量。结果显示：对川楝素标准品溶液进行重复性测试，川楝素两个峰的保留时间及峰面积的 RSD 分别在 0.15~0.18% 和 0.73~0.97% 之间；以两个峰的峰面积之和采用外标法定量，其结果显示校准曲线相关系数大于 0.999；使用 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标样数据，以 3 倍信噪比（峰至峰）计算川楝素方法检出限，低于限度的百分之一以下。使用川楝子药材作为加标基质，考察三个不同浓度水平加标回收以及 RSD，结果显示，三个不同水平的加标回收率在 91.16~103.04% 之间；该方法满足 2020 版中国药典中川楝子中川楝素的定性定量分析的要求。综上所述，各项数据表明本方法灵敏度高、稳定性和重复性好，分析效率高，适用于川楝子中川楝素的含量测定。

岛津应用云

