

LC-MS/MS 检测人参再造丸中的马兜铃酸 I

LCMSMS-798

摘要： 本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用测定人参再造丸中的马兜铃酸 I 的方法。马兜铃酸 I 在 0.4 ~20 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.998 以上。在高、中、低三个浓度下，化合物的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.049%~0.082% 和 2.263%~4.712% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 0.4 ng/mL 的样品，回收率为 94.8%。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可为相关从业人员提供参考。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 人参再造丸 马兜铃酸 I

技术特点：

- ❖ 本方法检测马兜铃酸 I 的灵敏度高、分析时间短。
- ❖ 本方法前处理简单，回收率高。

人参再造丸具有祛风化痰、活血通络、益气养血的功效，一般用于治疗中风口眼歪斜、半身不遂、手足麻木等症，该药由人参、广藿香、檀香、玄参、细辛等 56 味中药制成。通常马兜铃属、细辛属中药材中均含有不同程度的强致癌物马兜铃酸 I。因此，建立一种分析检测马兜铃酸 I 的方法，对于药品安全监测

有很大意义。

本文使用岛津高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪，建立了人参再造丸中马兜铃酸 I 的检查方法。结果表明，该方法具专属性好，灵敏、稳定、线性范围宽、回收率高的特点，可供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LCMSMS 液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	SCL-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40D X3	质谱仪：	LCMSMS
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机：	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

- 色谱柱： Shim-pack Velox C18 (100 mm×.2.1 mm I.D, 1.8 μm)
岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32007-03
- 流动相： A 相 -1 mmol/L 乙酸铵 0.1 % 甲酸水溶液 B 相 - 乙腈
- 柱温： 40°C
- 流速： 0.3 mL/min
- 进样体积： 1 μL
- 洗脱方式： 梯度洗脱，初始浓度为 B 相 20%，时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
8.00	Pumps	Pump B Conc.	80
12.00	Pumps	Pump B Conc.	80
12.10	Pumps	Pump B Conc.	20
15.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI, 正离子模式	DL 管 温 度：100°C
接口电压：4 kV	加热模块温度：400°C
雾化气：氮气 3.0 L/min	接 口 温 度：300°C
干燥气：氮气 15 L/min	扫 描 模 式：多反应监测 (MRM)
加热气：空气 5 L/min	MRM 参 数：见表 2
碰撞气：氩气 (270 kPa)	

表 2 MRM 参数

化合物	化学分子式	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE (V)	Q3 Pre Bais(V)
马兜铃酸 I	C ₁₇ H ₁₁ NO ₇	313-67-7	359.10	298.00*	-13.0	-13.0	-21.0
				296.00	-14.0	-15.0	-14.0

* 表示定量离子

■ 样品前处理

取人参再造丸适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 分钟, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 70% 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 专属性

空白溶剂 (70% 甲醇) 和 0.4 ng/mL 马兜铃酸 I 的 MRM 色谱图如图 1 所示, 色谱峰分离良好, 通道无干扰。

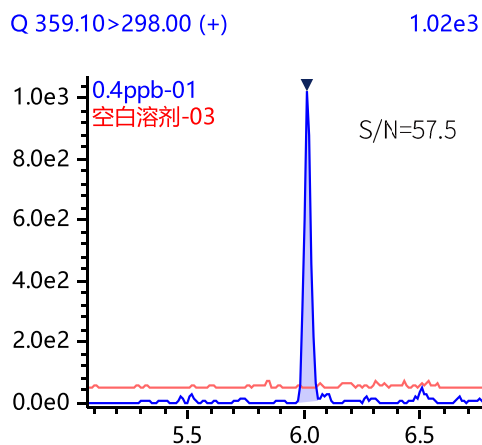


图 1 空白溶剂 (红色) 和 0.4 ng/mL (蓝色) 马兜铃酸 I 的 MRM 色谱图

3.2 校准曲线和检出限

用 70% 甲醇溶液配制 0.4、1、2、4、10、20 ng/mL 六个浓度的马兜铃酸 I 标准溶液, 按照 1.2 中的分析条件进行测定, 采用外标法定量。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制外标法校准曲线, 结果如图 2 所示, 线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

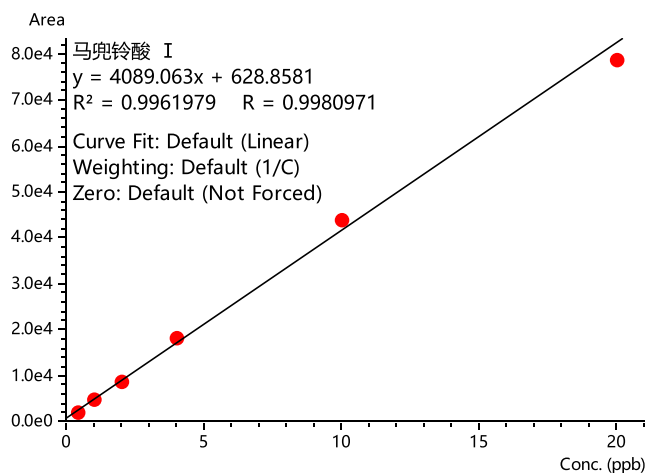


图 2 马兜铃酸 I 标准曲线

表 3 马兜铃酸 I 的校准曲线

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	线性范围 (ng/mL)
马兜铃酸 I	$Y=(4089.063)X+(628.8581)$	0.9981	90.1~107.3	0.4~20

3.3 重复性实验

取 0.4、2 和 10 ng/mL 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，色谱图如图 3 所示，具体测定结果见表 4。

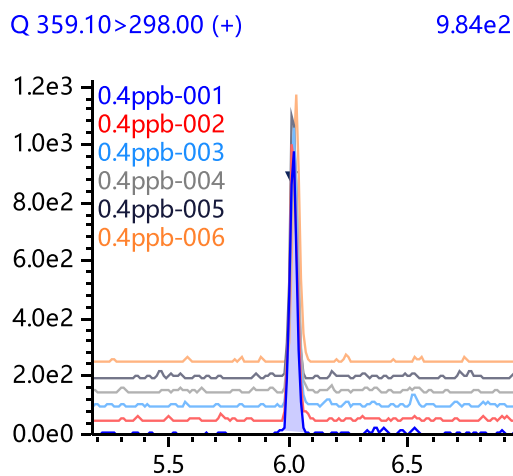


图 3 0.4 ng/mL 马兜铃酸 I 标准品重复性色谱图

表 4 马兜铃酸 I 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	RSD% (0.4 ng/mL)		RSD% (2 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
马兜铃酸 I	0.082	4.712	0.077	2.513	0.049	2.263

3.4 样品测定和加标回收率

取市售人参再造丸按照 2.0 中方法处理样品，得到供试品溶液，按 1.2 中的分析条件上机分析。供试品溶液检测色谱图如图 4 所示，供试品中检测到马兜铃酸 I 浓度为 0.4 ng/mL，含量为 10 ng/g。向供试品中添加 0.4 ng/mL 浓度的马兜铃酸 I 进行加标回收实验，加标样品色谱图如图 5 所示，加标样品中马兜铃酸 I 浓度为 0.759 ng/mL，回收率为 94.8%。

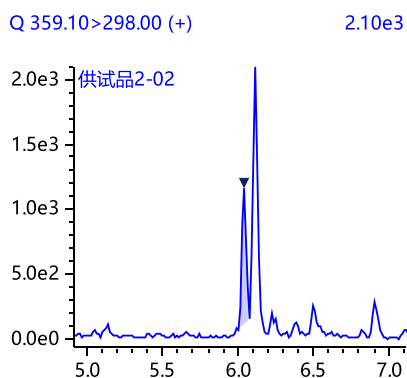


图4 供试品色谱图

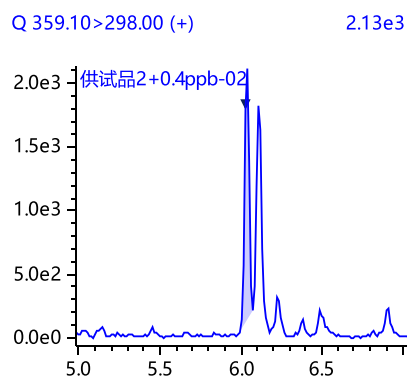


图5 加标回收色谱图 (加标浓度 0.4 ng/mL)

■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪，建立了人参再造丸中马兜铃酸 I 的检查方法。马兜铃酸 I 在 0.4~20 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.998 以上。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可为相关从业人员提供参考。

岛津应用云

