

LC-MSMS 法检测心可舒胶囊中人参皂苷 Rb3 的含量

LCMSMS-596

摘要：本文参考国家药监局发布的心可舒胶囊补充检验方法第 58 号公告之检测方法（BJY201905），建立一种使用岛津超高效液相色谱仪 - 三重四极杆质谱仪检测心可舒胶囊中人参皂苷 Rb3 含量的方法。该方法采用外标法定量，线性良好，相关系数为 0.9996；灵敏度高，仪器检出限为 0.4 ng/mL，低于检测方法（BJY201905）的判定浓度点（4.0 ng/mL）；在精密度上，三个浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差 RSD 值分别在 0.03~0.04% 和 2.30~3.94% 之间，仪器精密度良好；在判定浓度点的加标回收率为 67.5%。该方法灵敏可靠，可为心可舒胶囊中 Rb3 含量的检测提供参考。

关键词：三重四极杆质谱仪 心可舒胶囊 人参皂苷 Rb3

心可舒胶囊由丹参、葛根、三七、木香与山楂这 5 味药组成，药方中三七活血通脉为臣药。三七为临床常用的贵细中药材，入药部位为根及根茎，但因其价格因素，部分不良企业存在以三七茎叶掺入甚至替代三七投料的现象，但依据心可舒胶囊的现行法定标准，无法区分制剂中所投药材为三七根茎还是三七茎叶。为打击此种行为，依据三七茎叶与三七根茎中所含皂苷类成分种类、比例的差异，特别是三七茎叶中人参皂苷 Rb3 含量较高，而三七根茎中不含或极少含有人参皂苷 Rb3，因此可以人参皂苷 Rb3 的含量作为依据判定药方是否有非法添加，对药物的真伪进行鉴定。

在 2015 版中国药典中，人参皂苷 Rb3 的测定方法分别有高效液相色谱方法（通则 0512）和三重四极杆质谱法（通则 0431），由于通常测试的样品中 Rb3 含量相对较低，且质谱法的灵敏度也更高，目前更多采用质谱法进行测试。2019 年 7 月 22 日，国家药监局发布了关于心可舒胶囊等药品的补充检验方法第 58 号公告，在该公告中发布的检测方法（BJY201905）正是采用三重四极杆液相质谱法。

本文参考该公告中的检测方法（BJY201905），使用岛津超高效液相色谱仪 - 三重四极杆质谱仪建立心可舒胶囊中人参皂苷 Rb3 含量的检测方法，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A₅

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

质谱仪：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver.5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Scepter C18-120 100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm； P/N: 227-31012-05；

岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A- 水；B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40℃

进样体积：10 μL

洗针液：甲醇 / 水 = 1/1 (v/v)

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 27%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
12.00	Pumps	Pump B Conc.	34
15.50	Pumps	Pump B Conc.	40
16.00	Pumps	Pump B Conc.	95
17.00	Pumps	Pump B Conc.	95
17.10	Pumps	Pump B Conc.	27
20.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI- 加热气流速: 10 L/min
 雾化气流速: 3 L/min 干燥气流速: 10 L/min
 加热模块温度: 400 °C 碰撞气: 氩气 270 kPa
 接口温度: 350 °C 扫描模式: 多反应监测 (MRM)
 DL 温度: 250 °C MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数表

No.	中文名称	英文名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	人参皂苷 Rb3	Ginsenoside-Rb3	68406-26-8	1077.25	783.25*	32	46	30
					945.35	30	41	22

* 代表定量离子对。

1.3 标准溶液配制

参照检测方法 BJJ201905, 精密称取一定量人参皂苷 Rb3 粉末, 溶解于甲醇溶剂, 获得 100 mg/L 储备溶液, 在此基础上用 20% 甲醇溶液稀释获得线性校准溶液, 浓度分别为 2.0、4.0、10.0、20.0 和 40.0 ng/mL, 其中 4.0 ng/mL 为方法检出限值的判定浓度。

1.4 样品前处理

取 10 粒心可舒胶囊的内容物, 研细, 取约 1.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 置 80°C 水浴中加热回流 2 小时, 取出, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀过滤, 取 1 mL 置 100 mL 容量瓶中, 加 20% 乙腈溶液稀释至刻度, 摇匀过滤即得。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液 MRM 谱图

人参皂苷 Rb3 MRM 色谱图见图 1。

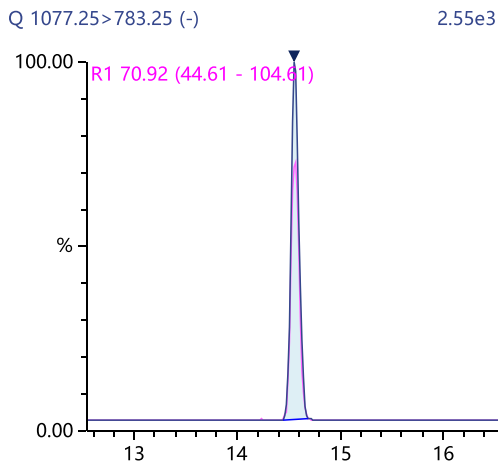


图 1 人参皂苷 Rb3 MRM 色谱图 (4.0 ng/mL)

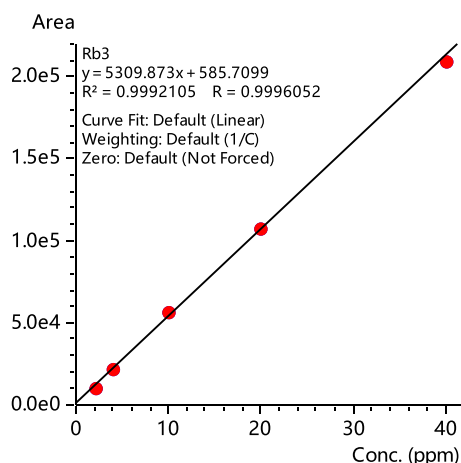


图 2 人参皂苷标准曲线

2.2 线性关系

按照 1.2 中的分析条件对校准溶液进行测定，以峰面积为纵坐标，以浓度为横坐标，外标法绘制标准曲线。人参皂苷 Rb3 的标准曲线见图 2，线性方程、相关系数和定量限见表 3。

表 3 线性关系和仪器定量限 (权重: 1/C)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r	仪器定量限 (ng/mL)
人参皂苷 Rb3	$Y = (5309.87)X + (585.710)$	2.0~40	95.4~105.1	0.9996	0.40

2.3 精密度实验

对三个浓度的标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的精密度结果如表 4 所示。三个浓度下人参皂苷 Rb3 的保留时间和峰面积的 RSD 值分别在 0.03~0.04% 和 2.30~3.94% 之间，仪器精密度良好。

表 4 精密度结果 (n=6)

名称	RSD% (4 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)		RSD% (20 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
人参皂苷 Rb3	0.03	3.94	0.03	2.53	0.04	2.30

2.4 样品测试和加标回收实验

使用本方法检测了某品牌心可舒胶囊中人参皂苷 Rb3 含量，测试结果低于检出限 (图 3)。以此样品进行 3 个平行浓度的加标回收率测试，加标浓度为判定浓度即 4.0 ng/mL，按照 1.4 方法处理后上机分析，加标回收结果见表 5。该浓度下的平均加标回收率为 67.50%，方法可靠。

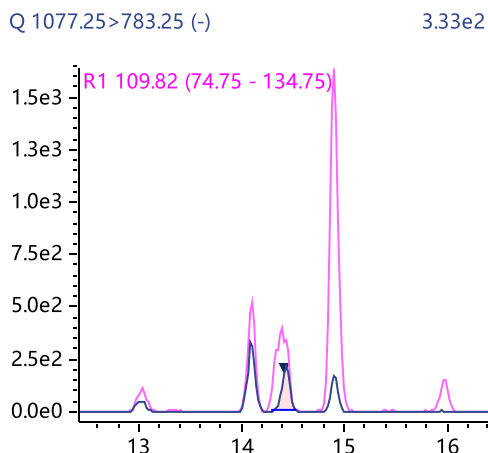


图 3 某品牌心可舒胶囊人参皂苷 Rb3 色谱图

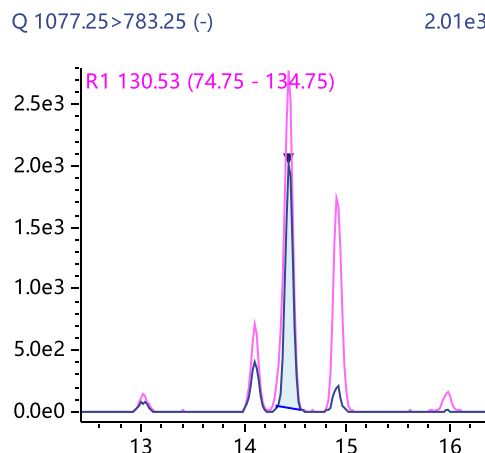


图 4 加标回收测试人参皂苷 Rb3 色谱图

表 5 加标回收率

化合物名称	测试浓度 (ng/mL)	回收率 /%	平均回收率 /%
人参皂苷 Rb3	2.53	63.25	67.50
	2.81	70.25	
	2.76	69.00	

■ 结论

本文建立一种使用岛津超高效液相色谱仪 - 三重四极杆质谱仪检测心可舒胶囊中人参皂苷 Rb3 含量的方法。该方法线性良好, 相关系数 0.9996, 同时灵敏度高, 仪器检出限为 0.4 ng/mL, 低于检测方法的判定浓度点 (4.0 ng/mL); 在精密度上, 三个浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差 RSD 值分别在 0.03~0.04% 和 2.30~3.94% 之间, 仪器精密度良好; 在判定浓度点 (4.0 ng/mL) 加标回收率为 67.5%。该方法灵敏可靠, 可为相关行业人员提供方法参考。

岛津应用云

