

# LC-MS/MS 法测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11

LCMSMS-582

**摘要：**本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 的方法。参考国家药品监督管理局的发布的《乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 检查项补充检验方法》，乌鸡白凤丸处理后，用超高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定性定量分析。结果显示拟人参皂苷 F11 线性良好，标准曲线相关系数均  $\geq 0.99$ ，准确度在 90.6%~110.0% 之间；中浓度的标准溶液连续分析 6 次，其保留时间和峰面积 RSD 分别为 0.20% 和 1.87%；低、高浓度加标样品回收率在 90.31%-94.08% 之间，相对标准偏差  $< 2.16\%$ ，方法准确可靠；检出限为 0.048 ng/mL，定量限为 0.145 ng/mL。该方法重复性好，准确度高，可用于乌鸡白凤丸中非法添加西洋参的筛选和检测。

**关键词：**三重四极杆液相色谱质谱联用仪 乌鸡白凤丸 非法添加 拟人参皂苷 F11

乌鸡白凤丸由乌鸡、鹿角胶、醋鳖甲、煅牡蛎、人参、黄芪、当归、白芍等 20 味药组成，是中医妇科常用的良药。方中人参为临床常用的贵细中药材，具有大补元气、强心固脱、补脾益肺、安神生津的功效，而西洋参苦寒清泄、甘寒凉补，入心肺肾经，为寒补之品。从化学成分来看，人参和西洋参的化学成分基本相似，均以人参皂苷为主要代表性有效成分，且人参皂苷的种类大体相同，但两者所含皂苷种类与含量及比例各有不同，且有些皂苷类成分又是它们所特有的，西洋

参的特征性成分拟人参皂苷 F11，在人参中未发现，人参的特征性成分人参皂苷 Rf，在西洋参中亦未发现。因此，本实验以拟人参皂苷 F11 作为非法添加的依据，进行方法研究。

随着现代分析技术的发展，UPLC-MS/MS 以其快速、简便，专属性强等优势在中药分析中日益得到广泛应用。本文采用 UPLC-MS/MS，建立了乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 的检测方法，该方法操作简捷、重复性好，可为乌鸡白凤丸的质量控制提供了依据。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统，具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A<sub>5R</sub>

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30ACMP

柱温箱：CTO-30A

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8  $\mu\text{m}$ ;  
P/N: 227-32007-03, 岛津(上海)实验器材有限公司)

流动相：A：水； B：乙腈

流速：0.35 mL/min

柱温：40°C

进样量：5  $\mu\text{L}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，时间程序见表 1。

表 1 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	泵	B.Conc	50
4.50	泵	B.Conc	80
4.51	泵	B.Conc	20
7.50	控制器	Stop	

#### 质谱条件

离子化模式：ESI<sup>-</sup>

碰撞气：氩气

雾化气：氮气 3.0 L/min

接口温度：300°C

干燥气：空气 10.0 L/min

D L 温度：250°C

加热气：氮气 10.0 L/min

加热模块温度：400°C

扫描模式：多反应监测 (MRM)，MRM 参数见表 2。

表 2 MRM 参数

名称	Mol. Wt.	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
拟人参皂苷 F11	800.50	69884-00-0	799.30	653.20	24.0	30.0	22.0

#### 1.3 样品前处理

取不同厂家的（厂家 A,B）的大蜜丸，剪碎，取约 2.25 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 80% 甲醇 25 mL，密塞，称定重量，置 80°C 水浴中加热回流 75 分钟，取出，放冷，再称定重量，用 80% 甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 1 mL，置 100 mL 量瓶中，加 20% 乙腈稀释至刻度，摇匀，滤过，即得。

#### 1.4 标准曲线制备

取拟人参皂苷 F11 对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液，精密量取适量，用 20% 乙腈稀释制成 0.2、0.4、1、5、10、50、100、200 ng/mL，即得，上机测定。

#### 1.5 结果判断

供试品的提取离子流色谱中，未同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，视为未检出；供试品的提取离子流色谱中，同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，且供试品色谱中  $m/z$  799.3 → 653.2 的色谱峰面积值不大于对照品溶液（检验标准中规定对照品溶液浓度为 0.4 ng/mL）中相应的峰面积值者视为未检出；供试品的提取离子流色谱中，同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，且供试品色谱中  $m/z$  799.6 → 653.6 的色谱峰面积值大于对照品溶液（检验标准中规定对照品溶液浓度为 0.4 ng/mL）中相应的峰面积值者，视为检出。

（参考国家药品监督管理局的发布的《乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 检查项补充检验方法》）

## ■ 结果与讨论

### 2.1 色谱图

对空白溶剂、拟人参皂苷 F11、A 厂家乌鸡白凤丸、B 厂家乌鸡白凤丸提取液进行分析，其色谱图分别见图 1、2、3、4，A 厂家乌鸡白凤丸样品在与拟人参皂苷 F11 对照品色谱峰保留时间相同的位置出现色谱峰，根据标准要求，进行定量分析。

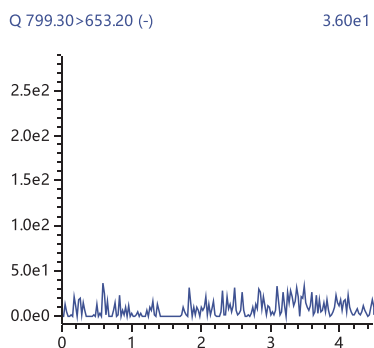


图 1 空白溶剂 MRM 色谱图

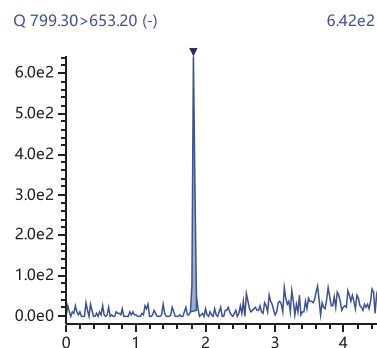


图 2 拟人参皂苷 F11 色谱图 (0.4 ng/mL)

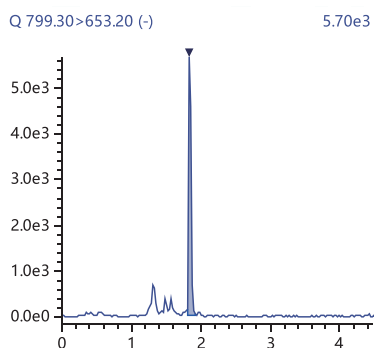


图 3 A 厂家乌鸡白凤丸提取液色谱图

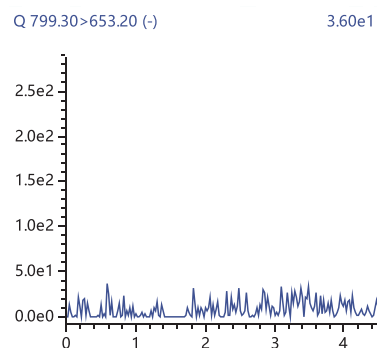


图 4 B 厂家乌鸡白凤丸提取液色谱图

### 2.2 线性范围

对系列标准曲线溶按 1.2 中的分析条件进行分析，以面积为纵坐标，浓度为横坐标，进行线性拟合。标准曲线结果见表 3，线性相关系数  $r \geq 0.99$ ，准确度在 90.6%~110.0% 之间，满足测定需求。

表 3 标准曲线信息

化合物	线性方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
拟人参皂苷 F11	$Y = (2726.56)X + (157.884)$	0.2-200	0.998	90.6-110.0

### 2.3 检出限及定量限

选取标曲线性范围的最低点浓度的标品进样分析确定其检出限及定量限，分别以 3 倍信噪比 (S/N=3) 和 10 倍信噪比 (S/N=10) 确定其检出限和定量限，计算检出限和定量限见表 4。

表 4 检出限和定量限

化合物	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
拟人参皂苷 F11	0.048	0.145

## 2.4 精密度实验

对 50 ng/mL 标准连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD，其保留时间和峰面积 RSD 分别为 0.20% 和 1.87%，仪器重复性良好。

## 2.5 加标回收

取乌鸡白凤丸样品，加入低、高浓度标品（每个浓度重复三次），按照 1.3 中方法制备，通过计算测得量与加入量的比值，计算回收率，回收率数据见下表 5，不同浓度下拟人参皂苷加标回收率范围均在 90.31%-94.08% 之间，相对标准偏差 < 2.16%，方法准确可靠。

表 5 加标回收实验结果 (n=3)

中文名称	低水平			高水平		
	加标浓度 (ng/mL)	加标回收率 %	加标回收率 RSD%	加标浓度 (ng/mL)	加标回收率 %	加标回收率 RSD%
拟人参皂苷 F11	0.4	94.08	2.03	100	90.31	2.16

## 2.6 实际样品测定

取乌鸡白凤丸样品按文中方法处理。上机测定，测定结果见表 6。其中 A 厂家乌鸡白凤丸提取液在 799.3 → 653.2 通道同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，且色谱峰面积值大于检验标准中规定的相应的对照品溶液 (0.4 ng/mL) 的峰面积值，检出拟人参皂苷 F11；B 厂家乌鸡白凤丸提取液未同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰。

表 6 乌鸡白凤丸样品测定结果

待测样品	峰面积
0.4 ng/mL 拟人参皂苷 F11	1287
A 厂家乌鸡白凤丸	11720
B 厂家乌鸡白凤丸	N.D.

注：N.D. 表示未检出

## ■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 的方法。乌鸡白凤丸样品经处理后，用超高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定性定量分析。结果显示拟人参皂苷 F11 线性良好，标准曲线相关系数均  $\geq 0.99$ ，准确度在 90.6%~110.0% 之间；低、高浓度加标样品回收率 90.31%-94.08% 之间，相对标准偏差 < 2.16%，方法准确可靠；检出限为 0.048 ng/mL，定量限为 0.145 ng/mL。该方法简便、快速、灵敏度高，被测成分色谱峰峰形良好，分离度好，相互之间无干扰，可用于乌鸡白凤丸的质量控制。

岛津应用云

