

应用SCIEX Triple Quad™ 3500系统检测龙胆泻肝丸中的马兜铃酸I含量

Determination of Aristolochic Acid I in Longdan Xiegan Pills on SCIEX Triple Quad™ 3500 system

陈金梅, 司丹丹, 龙志敏, 郭立海

Chen Jinmei, Si Dandan, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX中国

SCIEX China

关键词: SCIEX Triple Quad™ 3500, 马兜铃酸I

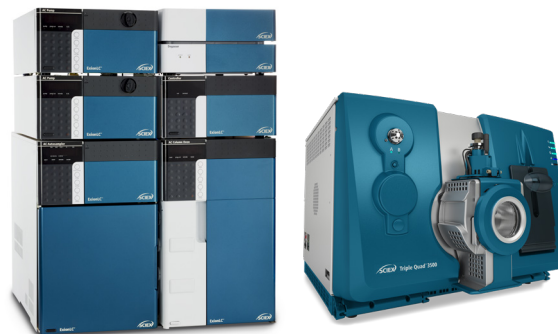
Key Words: SCIEX Triple Quad™ 3500, Aristolochic Acid I

前言

马兜铃酸为硝基菲类有机酸类化合物。这类有机化合物天然存在于诸如马兜铃属及细辛属等马兜铃科植物中, 而这些植物曾广泛地被中医经炮制解毒作为原生药材入药。马兜铃酸 I 是最常见的一种马兜铃酸类化合物, 它可在几乎所有马兜铃属植物中发现。早在2002年, 世界卫生组织国际癌症研究机构将马兜铃酸列为潜在致癌物质, 2012年将其列入 I 类致癌物质, 今年8月, 国家药品监督管理局发布黄连上清丸等水丸中水稻源性成分检查项补充检验方法等2项补充检验方法的公告, 本次共有《黄连上清丸(水丸)、龙胆泻肝丸(水丸)、防风通圣丸(水丸)和风寒咳嗽丸(水丸)中水稻源性成分检查项补充检验方法及《龙胆泻肝丸中马兜铃酸I成分检查项补充检验方法》。本实验采用SCIEX Triple Quad™ 3500系统, 依照龙胆泻肝丸中马兜铃酸I成分检查项补充检验方法用于某品牌龙胆泻肝丸药品的检测, 为监测此类药物提供参考。

仪器设备

SCIEX ExionLC™液相系统 +SCIEX Triple Quad™ 3500系统



SCIEX ExionLC™液相系统 +SCIEX Triple Quad™ 3500系统

液相方法

色谱柱: Phenomenex Luna Omega Polar C18
100 × 2.1 mm, 1.6 μm

流动相: A相: 水 (0.1%甲酸+5mmol/L 乙酸铵)
B相: 乙腈

流速: 0.3 ml/min

柱温: 40 °C

进样量: 1 μL

表1. 液相梯度

Time(min)	A (%)	B (%)
0.0	31	69
15.0	31	69
18	60	40
20	60	40
20.1	31	69

质谱方法

离子源: ESI源, 正离子模式

离子源参数:

IS电压: 4500 V

气帘气 CUR: 25 psi

雾化气 GS1: 55 psi

辅助加热气 GS2: 60 psi

碰撞气 CAD: low

源温度 TEM: 450 °C

表2. 马兜铃酸I的质谱参数

Compound	Q1	Q3	DP	CE
马兜铃酸 I	359.0	298.0	60	16
马兜铃酸 I	359.0	296.0	60	21

实验结果

1. **特异性:** 甲醇溶液, 作为溶剂空白; 称取一定量的某品牌龙胆泻肝丸药品, 研细, 取2 g, 精密称定, 置50 ml具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇25 ml, 称定重量, 超声处理30 min, 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, 作为空白基质溶液; 取马兜铃酸I标准品, 加入一定量空白基质溶液溶解至10 ng/ml的溶液。分别取1 μl进样, 提取离子流图如下, 在待测物保留时间处无干扰, 见图1。

2. **线性范围:** 用甲醇逐级稀释马兜铃酸I标准工作溶液至0.05 ng/ml, 1 ng/ml, 2 ng/ml, 4 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 100 ng/ml, 500 ng/ml, 1000 ng/ml, 以峰面积对浓度做标准曲线。图2为马兜铃酸I线性范围、线性方程和相关系数。

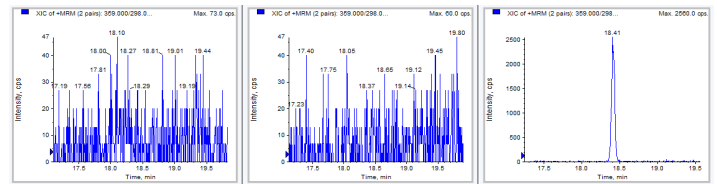


图1. 空白溶剂, 空白基质和浓度为10 ng/ml的溶液中的提取离子流图

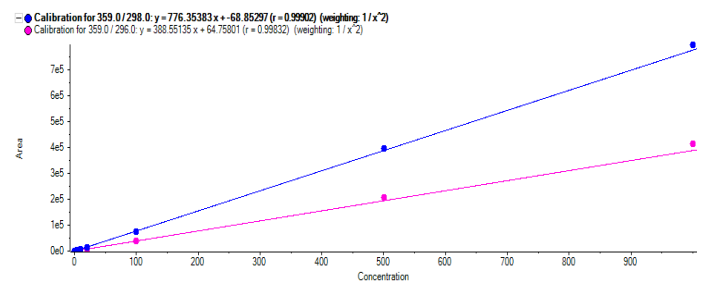


图2. 马兜铃酸I线性范围, 线性回归系数r=0.99737

3. **LLOQ的重现性:** 平行制备六份LLOQ溶液, 进样分析, 测定结果如下所示。六份平行样品中, 马兜铃酸I的重现性RSD%为3.53%, 表明重现性良好。

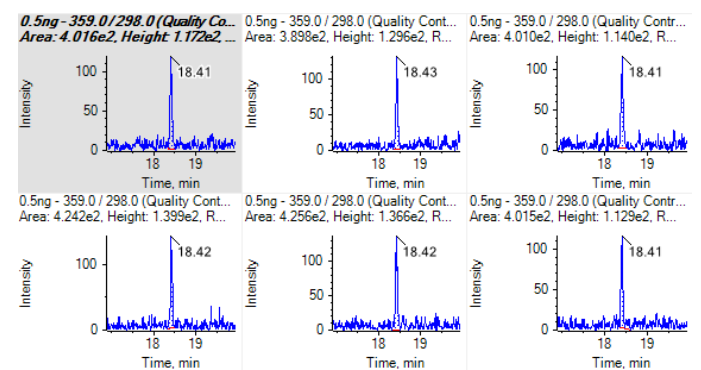


图3. LLOQ浓度下重现性色谱图展示

4. **加标回收率:** 取空白基质溶液, 配置成浓度为 2 ng/mL 马兜铃酸I做为加标样品, 平行制备六份, 进样分析, 测试结果如下表格, 回收率在80.57-97.35%。

表3. 加标回收率测试结果

Sample Name	Sample Type	Actual Concentration	Area	Retention Time	Accuracy
jb_2ng_1	Quality Control	2.00	1.174e3	18.4	80.53
jb_2ng_2	Quality Control	2.00	1.320e3	18.4	90.06
jb_2ng_3	Quality Control	2.00	1.337e3	18.4	91.20
jb_2ng_4	Quality Control	2.00	1.432e3	18.4	97.35
jb_2ng_5	Quality Control	2.00	1.272e3	18.4	86.96
jb_2ng_6	Quality Control	2.00	1.228e3	18.4	84.06

5. **样品测定结果:** 按照上述前处理方法对某品牌龙胆泻肝丸药品中马兜铃酸I的含量进行测定, 结果表明该品牌龙胆泻肝丸药品中无马兜铃酸I检出。

总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500系统建立了LC-MS/MS方法测定龙胆泻肝丸中的马兜铃酸I含量。方法的特异性好, 无干扰; 线性范围为0.05 ng/ml-1000 ng/ml, 线性范围宽, 线性关系良好, 且灵敏度高; 最低定量下限LLOQ为0.05 ng/ml, 低于限度水平, 灵敏度高, 且RSD为3.53%, 限度浓度的基质加标的回收率为80.57-97.35%, 表明方法和仪器的重现性良好。该方法为检测中药中马兜铃酸I提供了参考。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14008-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)