

SCIEX Triple Quad™ 4500系统快速检测乌鸡白凤丸中的拟人参皂苷F11

Rapid Determination of Anthropomorphic ginseng saponin F11 in Wuji Baifen Wan by SCIEX Triple Quad™ 4500 System

谢亚平, 司丹丹, 龙志敏

Yaping Xie, Dandan Si, Zhimin Long

SCIEX 应用支持中心, 中国

Key Words: SCIEX Triple Quad™ 4500 System, Anthropomorphic ginseng saponin F11, Wuji Baifen Wan

引言

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, 用于气血两虚, 身体瘦弱, 腰膝酸软, 月经不调等。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。针对乌鸡白凤丸的质量控制, 4月1日国家药监局发布乌鸡白凤丸中拟人参皂苷F11检查项补充检验方法。以拟人参皂苷F11作为非法添加的依据, 建立了乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 的液质检测方法, 提高了方法的灵敏度与专属性, 为乌鸡白凤丸的质量控制提供了依据。本文参照乌鸡白凤丸中拟人参皂苷F11检查项补充检验方法, 采用SCIEX Triple Quad™ 4500系统建立了拟人参皂苷F11的LC-MS/MS检测方法, 灵敏度高, 稳定性好, 可直接应用中国药典关于乌鸡白凤丸中拟人参皂苷F11检查项补充检验方法进行乌鸡白凤丸质量控制, 方便快捷。

仪器设备

SCIEX ExionLC™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统

对照品溶液制备

对照品溶液的制备取拟人参皂苷F11对照品适量, 精密称定,



图1 .ExionLC™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ 4500系统

加甲醇制成每1ml含0.1mg的溶液, 精密量取适量, 用20%乙腈稀释制成每1ml含0.1ng、0.2ng、0.4ng、4ng、8ng、80ng、100ng的溶液, 即得。(其中0.4ng为药典要求的限度)

供试品溶液制备

供试品溶液的制备取本品水蜜丸, 研细, 取约1.5g; 或取小蜜丸或大蜜丸, 剪碎, 取约2.25g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入80%甲醇25ml, 密塞, 称定重量, 置80℃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1ml, 置100ml量瓶中, 加20%乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

液相条件

液相系统: SCIEX ExionLC™ AD系统

色谱柱: Luna® Omega 3 µm Polar C18 100 A, 100 × 2.1 mm

流动相: A:水; B:乙腈

流速: 0.35 mL/min

柱温: 40 °C

液相梯度:

时间(min)	A(%)	B(%)
0	80	20
2	50	50
4.5	20	80
4.6	5	95
5.5	5	95
5.6	80	20
7	80	20

质谱条件

离子源: ESI, 负离子模式

扫描方式: MRM多反应监测

气帘气CUR: 20psi 源温度 Tem: 400°C

雾化气Gas1: 55psi 加热气Gas2: 55psi

碰撞气 CAD: 10

MRM参数: 如表1

表1. 拟人皂苷F11的质谱参数

化合物名称 (Name)	Q1	Q3	DP	CE
拟人皂苷F11-1	799.3	653.4	-205	-46
拟人皂苷F11-2	799.3	491.5	-205	-54

实验结果

重现性: 药典要求限度为0.4ng/ml, 典型色谱图见图2; 0.4ng/ml连续进样6针, RSD为2.73%。

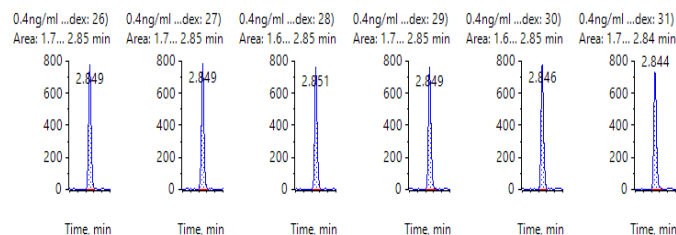


图2. 0.4ng/mL 拟人皂苷F11提取离子流图

该方法最低定量限为0.1ng/ml, 典型色谱图见图3; 0.1ng/ml连续进样6针, RSD为2.83%。

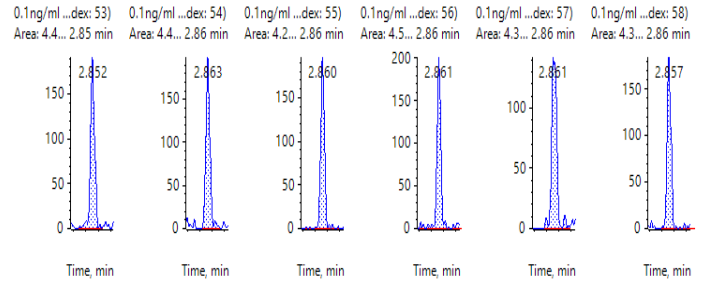


图3. 0.1ng/mL 拟人皂苷F11提取离子流图

线性范围: 分别进样分析每1ml含0.1ng、0.2ng、0.4ng、4ng、8ng、80ng、100ng的对照品溶液。以峰面积对浓度做标准曲线, 标准曲线在线性范围内线性关系良好, 相关系数 $r=0.99959$, 标曲各点准确度在96.91%-103.32%之间, 标准曲线见图4。

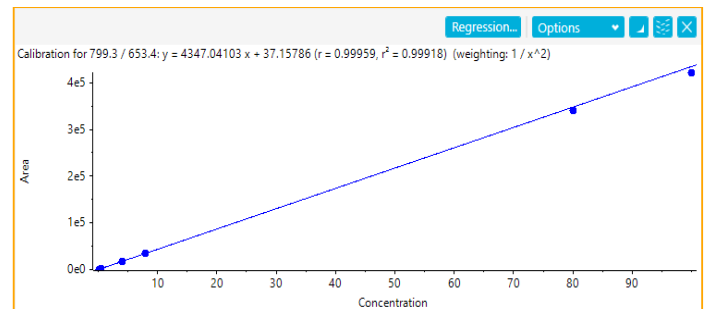


图4. 拟人皂苷F11标准曲线

专属性: a. 20%乙腈溶液、b. 0.1ng/ml对照品溶液。空白溶剂中保留时间RT=2.861min未出现色谱峰干扰, 方法专属性较好。

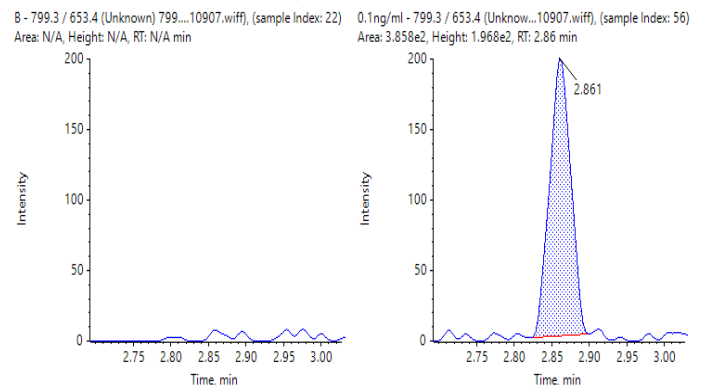


图5. 空白溶剂、拟人皂苷F11对照品溶液提取离子流图

供试品溶液检测：按照药典要求，精密吸取对照品溶液（0.4ng/ml）与供试品溶液各5 μ l，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定，记录色谱图，如图6所示，ac分别代表对照品溶液0.4ng/ml的两个离子对m/z 799.3 \rightarrow 653.4，m/z 799.3 \rightarrow 491.5；bd分别代表供试品溶液的两个离子对m/z 799.3 \rightarrow 653.4，m/z 799.3 \rightarrow 491.5。根据药典判定规则：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 \rightarrow 653.4的色谱峰面积值不大于对照品溶液中相应的峰面积值者，视为未检出；因此该供试品溶液符合要求。

总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500 系统建立了乌鸡白凤丸中的拟人参皂苷F11含量测定的LC-MS/MS方法。该方法特异性好无干扰，线性关系良好。方法的灵敏度、重现性以及供试品溶液检测均满足分析要求。此方法可用于乌鸡白凤丸中的拟人参皂苷F11含量测定。

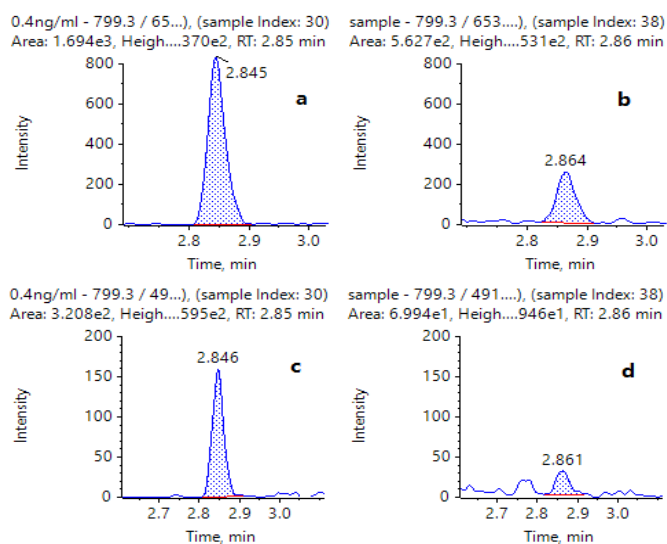


图6. 拟人参皂苷F11对照品溶液及供试品溶液提取离子流图

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-02-13928-ZH-A