

LC-MS/MS 法测定独一味中木犀草素

解军波^{1,2*}, 张彦青^{1,2}, 吴国娇², 王丽娟^{1,2}

(天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134; 2. 天津商业大学制药工程系, 天津 3100134)

[摘要] 目的: 建立 LC-MS/MS 检测独一味中木犀草素的含量。方法: 应用超声提取和 Agilent G6410B Triple Quad LC/MS 检测。Agilent Eclipse Plus C₁₈, (2.1 mm ×100 mm, 3.5 μm) 分析柱; 流动相甲醇 - 0.1% 醋酸水(80:20); 流速 0.2 mL·min⁻¹; 柱温 25℃; 进样量为 20 μL。以液相色谱分离、电喷雾离子化串联质谱进行检测。结果: 木犀草素在 5~160 ng·mL⁻¹ 线性关系良好, 独一味药材中木犀草素的平均加样回收率为 99.27%。结论: 该方法快速简便、精密度好、灵敏度高, 可用于独一味药材中木犀草素的含量测定。

[关键词] 液相色谱 - 质谱/质谱法; 独一味; 木犀草素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0064-03

Determination of Luteolin in *Herba Lamiophlomis* by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method

XIE Jun-bo^{1,2*}, ZHANG Yan-qing^{1,2}, WU Guo-jiao², WANG Li-juan^{1,2}

(Tianjin Key Laboratory of Food Technology, Tianjin 300134, China; Department of Pharmaceutical Engineering, Tianjin University of Commerce Tianjin 300134, China)

[Abstract] Objective: To establish a rapid resolution liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for determination of luteolin in *Herba Lamiophlomis*. **Method:** A LC-MS/MS method was set up using Eclipse Plus C₁₈ (2.1 mm ×100 mm, 3.5 μm), methanol - 0.1% acetic acid (80:20) as the mobile phase with a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹. **Result:** The luteolin was linear in the range of 5 to 160 ng·mL⁻¹ and the average recovery was 99.27% for luteolin. **Conclusion:** The method was simple, rapid and accurate and could be used for the determination of luteolin in *Herba Lamiophlomis*.

[Key words] LC-MS/MS; *Herba Lamiophlomis*; luteolin

独一味为唇形科植物独一味 *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo. 的干燥全草, 是藏族习用药材^[1], 具有活血化瘀、镇痛、止血、消肿、抗炎等作用^[2-5]。药理学研究结果表明, 独一味对实验性小鼠胃溃疡的具有明显的抑制作用, 对小鼠的学习和记忆障碍有改善作用^[6-7]。独一味的主要化学成分主要有黄酮类、环烯醚萜类及苯乙醇苷类等^[8]。目前对于该药材及相关制剂的质量评价, 多以木犀草素为指标, 采用常规 HPLC 法进行含量测定^[1,9-10], 而 LC-

MS/MS 测定独一味中木犀草素的含量方法还未见相关报道。本研究建立了 RRLC-MS/MS 方法测定独一味中木犀草素的含量。结果显示该方法快速简便、精密度好、灵敏度高, 可用于独一味药材中木犀草素的含量测定。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪 (Agilent, USA); G1322A 在线脱气机 (Agilent, USA); G1312B 二元泵 (Agilent, USA); G1316B 柱温箱 (Agilent USA); G1315C DAD 紫外检测器 (Agilent USA); G1367D 自动进样器 (Agilent USA); G6410B Triple Quad LC/MS; Masshunter 色谱工作站 (Agilent, USA); BP211D 型电子天平 (Satorius, Germany); ZH-2 型涡流混合器

[收稿日期] 20100121(006)

[通讯作者] * 解军波, Tel: 13752524378, E-mail: junboxie@yahoo.com.cn

(天津大学无线电厂); AS10200A 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); 独一味药材购自于青海西宁, 由天津商业大学解军波博士鉴定为唇形科植物独一味 *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo. 的干燥全草。木犀草素对照品(批号 111520-200201, 购自中国药品生物制品检定所); 色谱纯甲醇与超纯水均购自 J. T. Baker 公司。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C₁₈, (2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm), 柱温为 25 °C, 流动相为 0.1% 醋酸水-甲醇 (80:20); 流速 0.2 mL·min⁻¹, 进样量为 20 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源为电喷雾负模式电离 (ESI⁻), 检测方式为多反应检测 (MRM), 选定的母离子和子离子为 *m/z* 285.0 / 133.0, 电喷雾电压 4 000 V, 碎裂电压 160 V, 碰撞能量 25 V, 雾化气体 N₂, 雾化气压力 35 psi; 干燥气体 N₂, 干燥气流速 8 L·min⁻¹; 离子源温度 350 °C, 碰撞气体高纯氮气, 碰撞气压力 0.15 MPa。

按前述色谱和质谱条件对独一味样品中木犀草素进行测定, 记录色谱图。图 1, 2 分别为木犀草素标准品和样品的总离子流图与木犀草素的提取离子流图。

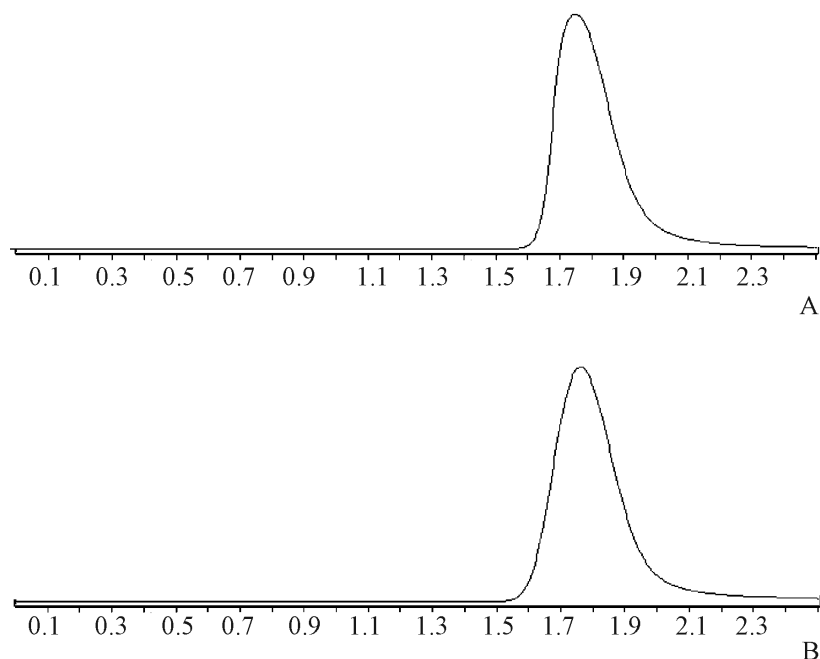


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 的 RRLC 色谱图

2.2 对照品溶液的配制 精密称量木犀草素 10 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀后即得浓度分别为 100 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取独一味药材研成细粉,

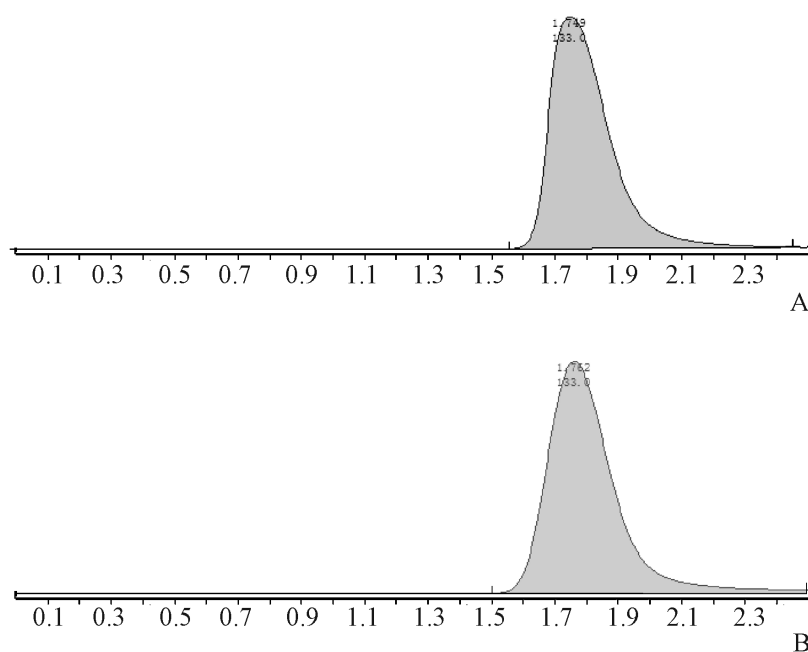


图 2 对照品 (A) 和样品 (B) 提取的木犀草素离子流图

精密称取 100 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 加流动相适量, 超声处理 30 min, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 针芯式微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液。

2.4 标准曲线的制备 精密量取对照品溶液 1 mL 置 100 mL 容量瓶中, 配成含木犀草素对照品 1 μg·mL⁻¹ 标准液。精密量取上述混合标准液 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 按前述色谱和质谱条件测定。以进样质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线方程为 $Y = 1.76 \times 10^2 X + 5.70 \times 10^2$, $r = 0.9995$ 在 5 ~ 160 ng·mL⁻¹ 的浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 按照 2.3 项制备方法, 制备独一味药材供试液, 精密吸取该供试品溶液 20 倍稀释液 20 μL 进样, 连续进样 5 次, 测定峰面积, 计算得木犀草素离子流色谱峰峰面积的 RSD 为 1.82%, 表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 按照 2.3 项制备方法, 制备制备独一味药材供试液, 精密吸取该供试品溶液 20 倍稀释液 20 μL 进样, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进行分析, 测定色谱峰面积, 计算得木犀草素提取离子流色谱峰峰面积的 RSD 2.23%, 表明稳定性良好。

2.7 重现性试验 按照 2.3 项制备方法, 制备独一味药材供试液 5 份供试液, 依法测定, 结果木犀草素含量的 RSD 为 2.01%, 表明重现性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取独一味药材, 按检出量精密加入浓度为 100 μg·mL⁻¹ 的木犀草素对照品溶液, 按照 2.3 项制备方法供试液共 5 份, 依法测定, 结果木犀草素的平均加样回收率为 99.27%。

2.9 样品测定 精密称取独一味药材, 按照 2.3 项

制备方法制备供试液,精密吸取该供试品溶液 20 倍稀释液 20 μL 进样,测定峰面积。重复测定 3 次,得独一味药材中木犀草素含量为 $0.162 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 2.52%。

3 讨论

在质谱参数选择中,曾以干燥气温度、干燥气流速、碎裂电压、碰撞能量做了优化木犀草素离子峰面积,最后确认实验中的参数如下:干燥气温度为 350 ;碎裂电压为 160 V,碰撞能量为 25 V,雾化气 N_2 压力为 35 psi;干燥气体 N_2 流速为 $8 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。研究结果发现以甲醇-0.1% 醋酸水(80:20)作为流动相,流速 $0.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,得到较好的分离度,且保留时间适当。相对于常规 HPLC 方法,该法分析时间短、精密度好、灵敏度高,可以用于测定独一味中的木犀草素的含量。本实验研究结果中独一味药材的含量明显低于 2005 年版药典标准(0.15%),可能与该样品地上部分比例较大有关。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:184.
- [2] 沈涛,贾正平,李茂星,等.独一味水提取物止血作用

及其机理的初步研究[J].中药新药与临床药理,2006,17(2):93.

- [3] 邓存国.藏药独一味胶囊治疗痛经 68 例[J].中国民族医药杂志,2006,12(1):10.
- [4] 李曙波.纯中药制剂独一味胶囊治疗骨性关节炎 42 例临床观察[J].临床和实验医学杂志,2006,11:1840.
- [5] 苑伟,宋玉威,梁资富,等.不同产地藏药独一味的镇痛、抗炎作用比较研究[J].中国药房,2003,14(2):716.
- [6] 王丽娟,彭勍,王勇,等.独一味对实验性小鼠胃溃疡的影响[J].时珍国医国药,2009,20(5):1189.
- [7] 王丽娟,王亚丽,李蓓,等.独一味对小鼠学习记忆能力的影响[J].时珍国医国药,2009,20(7):1761.
- [8] 张凤,孙连娜,陈万生.独一味的化学成分及药理作用[J].药学实践杂志,2008,26(3):169.
- [9] 朱华荣,陆洁,丁岗,等.独一味滴丸中木犀草素含量的 HPLC 测定[J].现代中药研究与实践,2008,22(4):25.
- [10] 徐春波,温艳,闰美霞.独一味分散片中木犀草素和总黄酮的含量测定[J].中成药,2006,28(9):1389.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国中药杂志》2010 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1995 年 7 月,是创早最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、科研院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2010 年定价每期 15 元,全年 24 期定价为 360 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjcmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。