

SFC-MS 用于齐墩果酸与熊果酸的测定

SFC-005

摘要： 本实验使用岛津 Nexera UC SFC-MS 系统建立了齐墩果酸和熊果酸的分离测定方法。选择 Shim-pack UC-X SIL 色谱柱，乙腈作为改性剂，通过优化改性剂比例获得最佳分离效果。分析结果显示，齐墩果酸与熊果酸在 6.25-100 $\mu\text{g/mL}$ 内线性良好，线性相关系数 R 大于 0.995。

关键词： Nexera UC SFC-MS 同分异构体 齐墩果酸 熊果酸

齐墩果酸 (oleanolic acid) 和熊果酸 (ursolic acid) 是结构类似的同分异构体，均为五环三萜类的化合物，用于治疗急、慢性肝炎。齐墩果酸广泛存在于齐墩果、女贞果实中。目前中药材中齐墩果酸和熊果酸的分离主要采用 RP-HPLC，分析时间较长。

超临界二氧化碳具有低极性、高扩散等特点，将超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatogram, SFC)

用于结构类似物的分析，可以获得更好的分离效果，并且与当前使用的反相色谱相比，具有分析速度快、使用溶剂少、环保的特点。

本文采用岛津 Nexera UC SFC-MS 系统，建立了木瓜中齐墩果酸与熊果酸分析方法，该方法具有分离度好、分析效率高、节省溶剂等特点。

实验部分

1.1 仪器 Nexera UC 系统

具体配置为：LC-30AD_{SF}(CO₂ 输液泵)，LC-20AD_{XR}(输液泵，含 LPGE 低压梯度比例阀)，LC-20AD_{XR}(补偿液输送泵)，DGU-20A₅(在线脱气机)，SIL-30AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，SFC-30A(背压调节单元)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-8045 三重四极杆质谱，LabSolutions Ver5.86 (色谱工作站)。



图1 SFC-MS/MS系统的图

1.2 SFC 色谱条件：

色谱柱：Shim-pack UC-X SIL 2.1 mm I.D.
 $\times 150$ mm L., 3 μm
流动相：A-scCO₂；B-0.1% 甲酸乙腈
流动相流速：2.0 mL/min
质谱补偿液：乙腈
补偿液流速：0.2 mL/min
柱温：35 $^{\circ}\text{C}$
背压：A-15 MPa
洗脱方式：梯度洗脱，5%B(0 min)，
5%(8.01 min)，stop(10 min)
进样体积：0.2 μL

1.3 质谱条件：

离子源：ESI，负离子模式分析
加热气流速：10.0 L/min
雾化气流速：3.0 L/min
干燥气流速：10.0 L/min
DL 温度：250 $^{\circ}\text{C}$
接口温度：300 $^{\circ}\text{C}$
加热模块温度：400 $^{\circ}\text{C}$
扫描模式：选择离子监测模式 (SIM)(参数见表 1)
驻留时间：200 ms

表1 SIM参数

物质名称	SIM 离子
齐墩果酸	455.20
熊果酸	455.20

1.4 目标分析物

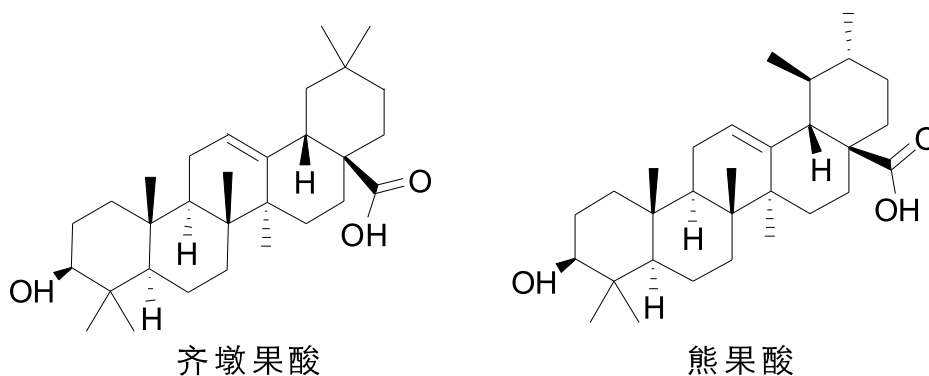


图2 齐墩果酸和熊果酸的化学结构

结果讨论

2.1 标准品色谱图

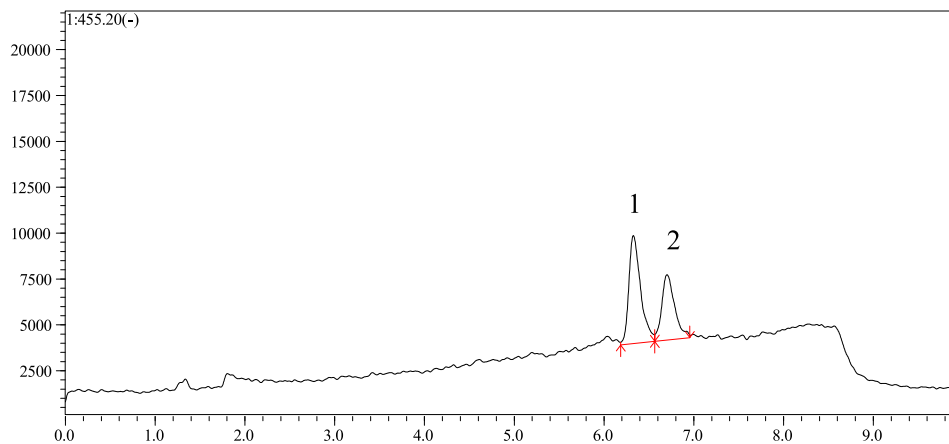


图3 齐墩果酸(1)和熊果酸(2)混合标准样品色谱图(12.5 $\mu\text{g/mL}$)

2.2 线性范围

本试验建立了齐墩果酸和熊果酸的分离方法，取齐墩果酸和熊果酸标准品，用甲醇作为溶剂，稀释成系列浓度样品，建立校准曲线。校准曲线线性关系良好，相关系数大于 0.995，标准曲线准确度在 93.3%~108.1%，结果如下表 2 及图 4 所示。

表2 齐墩果酸和熊果酸的线性方程及相关系数

物质名称	校准曲线	线性范围 (µg/mL)	准确度 (%)	相关系数 R
齐墩果酸	$Y = (3785.39)X + (2435.93)$	6.25-100	93.3-108.1	0.9987
熊果酸	$Y = (3241.10)X + (-12159.8)$	6.25-100	96.5-107.4	0.9999

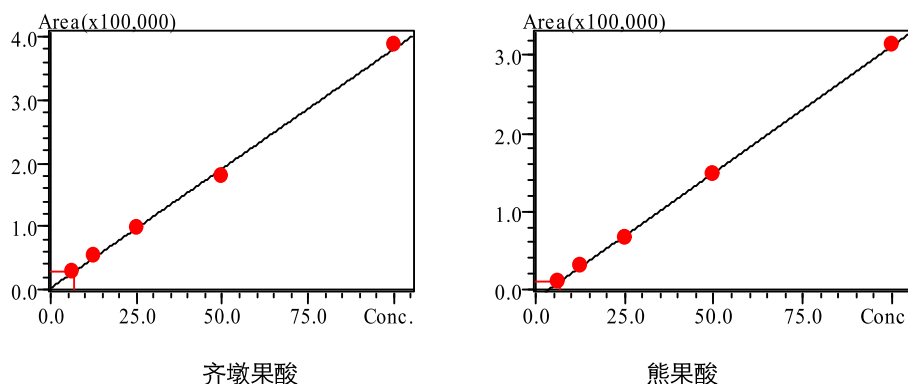


图4 齐墩果酸和熊果酸校准曲线

2.3 重复性

配制低 (6.25 µg/mL)、中 (25 µg/mL)、高 (100 µg/mL) 三个浓度下的标准样品，前述条件下连续进样分析 6 针，计算保留时间及峰面积的相对标准偏差。结果如下表 3 所示。

表3 低、中、高浓度的重复性

物质名称	低(RSD%)		中(RSD%)		高(RSD%)	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
齐墩果酸	0.48	0.44	0.32	0.75	0.68	2.30
熊果酸	0.64	0.49	0.35	0.59	0.71	1.08

2.4 木瓜样品测定

木瓜样品购自北京同仁堂，粉碎后过 120 目筛，取粉末 0.5 g，置于 50 mL 离心管中，加甲醇 25 mL 超声提取 20 min，上清液过 0.22 µm 微孔滤膜，上机测定。木瓜中齐墩果酸含量约是熊果酸的 11 倍。平行进样 6 针，测定的齐墩果酸和熊果酸均值分别为 66.1 µg/mL 和 9.9 µg/mL，RSD 均小于 6%。木瓜中齐墩果酸和熊果酸色谱图如下图 5 所示。

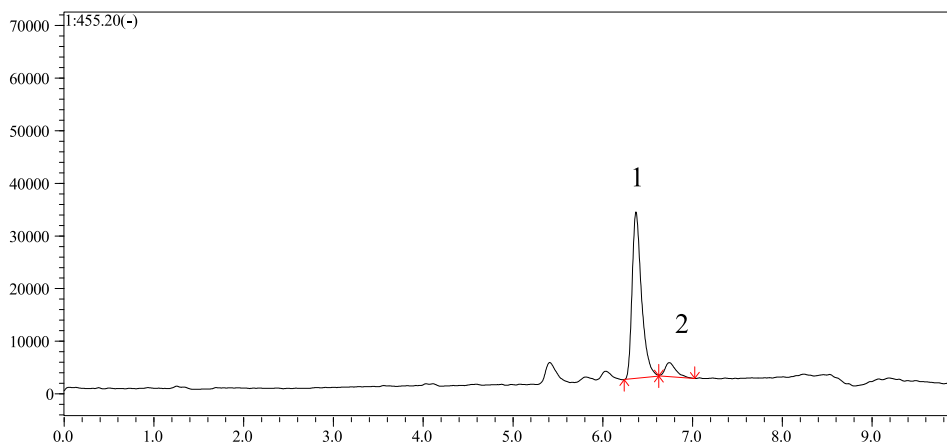


图5 木瓜样品中齐墩果酸(1)与熊果酸(2)色谱图

■ 结论

本文使用岛津 Nexera UC SFC-MS 系统建立了中药齐墩果酸和熊果酸的分离测定方法，该方法实现了快速分离齐墩果酸和熊果酸，可供中药材的质控人员参考。