

岛津 Nexera LC-40 应用于银杏叶提取物指纹图谱的分析

LC-178

摘要：本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统，建立了银杏叶提取物指纹图谱的测定方法。该方法分析时间短，供试品和银杏叶对照提取物中 17 个主色谱峰分离效果良好。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算供试品和对照提取物的指纹图谱相似度，全峰相似度在 0.927 以上，满足药典中不低于 0.90 的规定。连续 6 针进样，17 个目标峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.106%~0.636% 和 0.152%~2.601% 之间，表明仪器精密度良好。

关键词：Nexera LC-40 高效液相色谱仪 银杏叶提取物 指纹图谱

银杏作为我国特有的珍稀树种，在国内种植范围广泛。银杏叶提取物（EGb）则是一种治疗心脑血管疾病的有效物质，可以扩张冠状动脉血管、改善脑循环，主要的活性成分包含黄酮醇苷和萜类内酯。

指纹图谱分析手段是中药分析领域进行宏观监测的有效措施，在国际范围内被认为是控制中药或天然药物质量最有效的手段之一。它可以全面的反应化合物所含的化学成分种类、数量以及相互之间比例关系，

从而有效表征其内在质量。银杏叶提取物中各化合物的监测目前也采用指纹图谱的方式，但由于其成分较多，所以采用常规液相分析耗时较长。

本实验使用 Nexera LC-40 高效液相色谱系统对银杏叶提取物指纹图谱进行研究，该方法分析时间短，精密度高，指纹图谱相似度满足药典中不低于 0.90 的规定，能够为各类银杏叶提取物制剂质量控制提供帮助。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 液相色谱仪，包括 CBM-40A Lite 系统控制器，DGU-405 脱气机，LC-40B XR 输送泵，SIL-40C XR 自动进样器，CTO-40S 柱温箱，SPD-M40 检测器，LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站。



图 1 岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪

1.2 分析条件

色谱柱: UHPLC C18 色谱柱 (2.1 mm I.D.×100 mm L, 1.8 μm)

流动相: A: 0.4% 磷酸水溶液; B: 乙腈

流速: 0.4 mL/min

柱温: 35°C

检测波长: 360 nm

进样体积: 1 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相起始浓度为 16.6%, 时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.30	Pumps	Pump B Conc.	16.6
4.60	Pumps	Pump B Conc.	19.7
7.30	Pumps	Pump B Conc.	24.0
8.00	Pumps	Pump B Conc.	27.0
10.00	Pumps	Pump B Conc.	30.0
12.00	Pumps	Pump B Conc.	40.0
12.01	Pumps	Pump B Conc.	80.0
13.00	Pumps	Pump B Conc.	80.0
13.01	Pumps	Pump B Conc.	16.6
17.50	Controller	Stop	

■ 样品前处理

参照物溶液的制备: 精密称取芦丁对照品适量, 加 80% 甲醇制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液, 即得。(参照药典)

对照品溶液制备: 精密称取银杏叶对照提取物 40 mg, 精密加入 80% 甲醇 20 mL, 超声处理 10 分钟, 滤过, 取续滤液, 即得。(参照药典)

供试品溶液制备: 精密称取本品 40 mg, 同对照提取物溶液的制备方法制得供试品溶液。(参照药典)

■ 结果与讨论

3.1 银杏叶对照提取物指纹图谱

按照 1.2 中色谱分析条件, 对银杏叶对照提取物溶液和参照物溶液分别进行上机分析, 空白溶剂色谱图如图 2, 目标物出峰处无干扰。对照提取物和参照物色谱图见图 3、4 所示, 其中 6 号峰保留时间为 3.892 min, 与参照物芦丁出峰时间一致。其余 17 个主峰与药典规定一致。

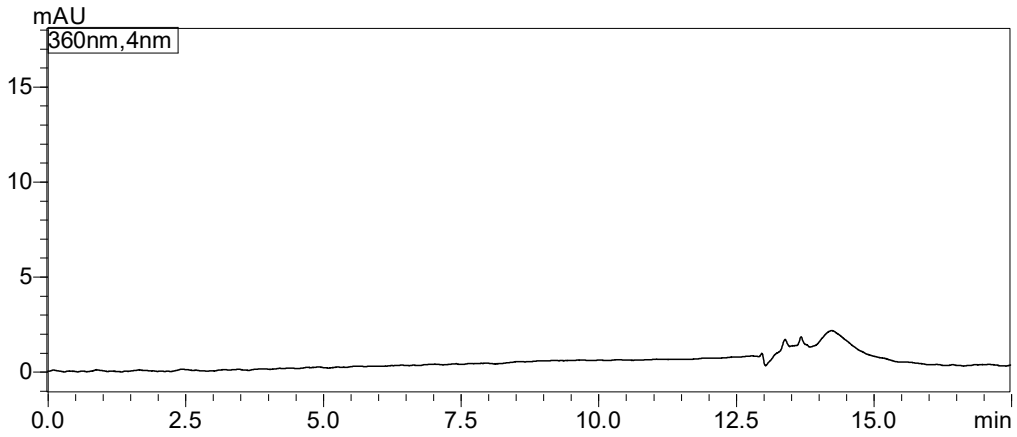


图2 空白溶剂色谱峰

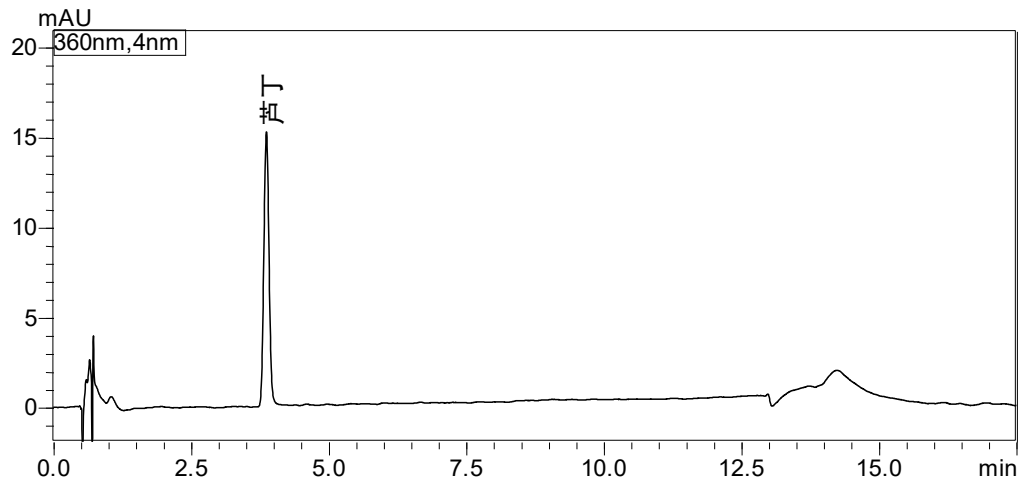


图3 参照物芦丁色谱峰

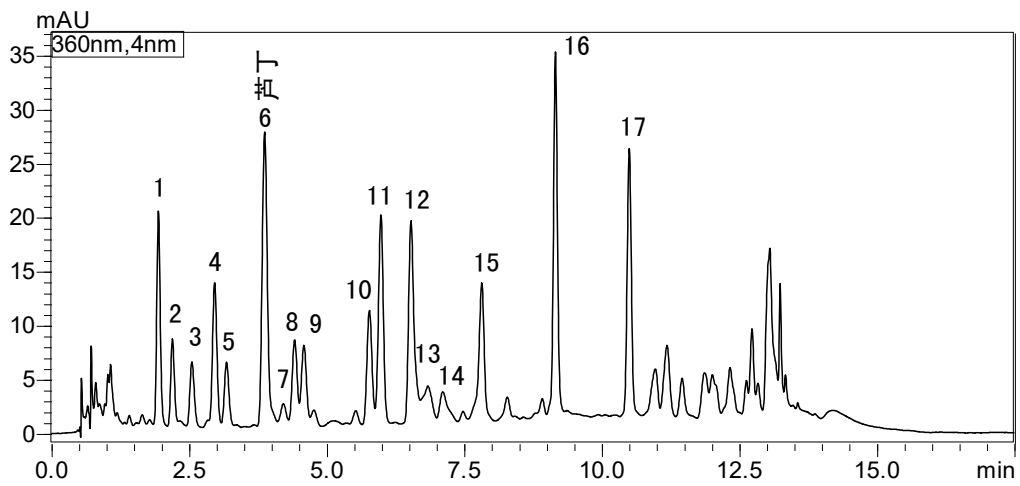


图4 银杏叶对照提取物指纹图谱

Nexera LC-40 液相色谱系统采用更加节约空间的二元输液泵一体化设计，最大耐压 70 MPa，可轻松实现延时短且精度高的高压梯度，流量精确度的误差在 0.06%。此外，SIL-40C XR 自动进样器可以在 5 秒内完成进样，进样速度较之前产品提升一倍，有效缩短多样品分析进程时间。因此，与常规液相色谱系统分析相比（图 5）Nexera LC-40 液相色谱系统缩短了分析时间，提高分析效率。

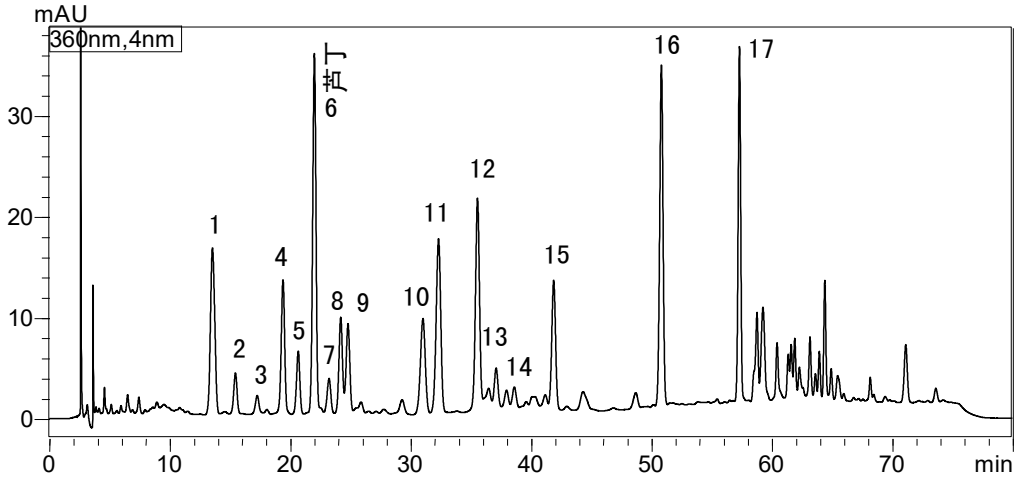


图 5 常规液相色谱系统银杏叶对照提取物指纹图谱（岛津常规液相采集图谱）

3.2 供试品和对照提取物相似度评价

选市售某厂家银杏叶提取物片按 2 中方法处理得到供试品溶液，并按 1.2 中色谱分析条件上机分析。结果表明，供试品溶液指纹图谱与对照提取物溶液指纹图谱相似。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版计算供试品和对照提取物溶液的指纹图谱相似度，全峰相似度在 0.927 以上，满足药典中不低于 0.90 的规定，指纹图谱相似度比较结果如图 6 所示。

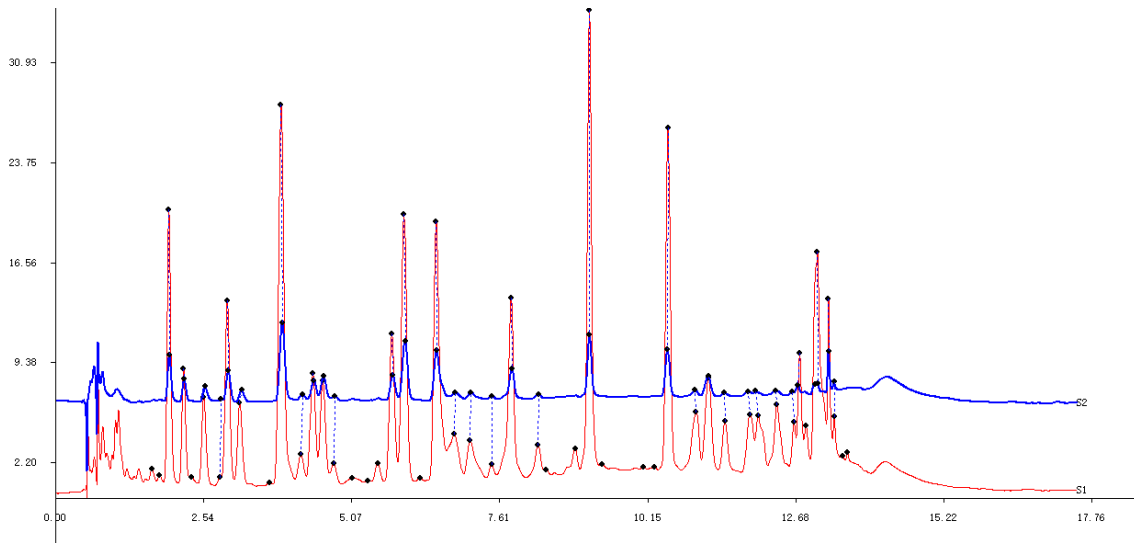


图 6 供试品和对照提取物指纹图谱相似度比较（S1：对照品 S2：供试品）

表 2 供试品和对照提取物指纹图谱相似度计算结果

	S1	S2
S1	1.000	0.927
S2	0.927	1.000

3.3 精密度实验

将方法 2 中配制的银杏叶对照提取物溶液连续进样 6 次，考察仪器精密度。17 个主峰的保留时间和面积 RSD 值分别在 0.106%~0.636% 和 0.152%~2.601% 之间，表明仪器精密度良好，详见图 7 和表 3。

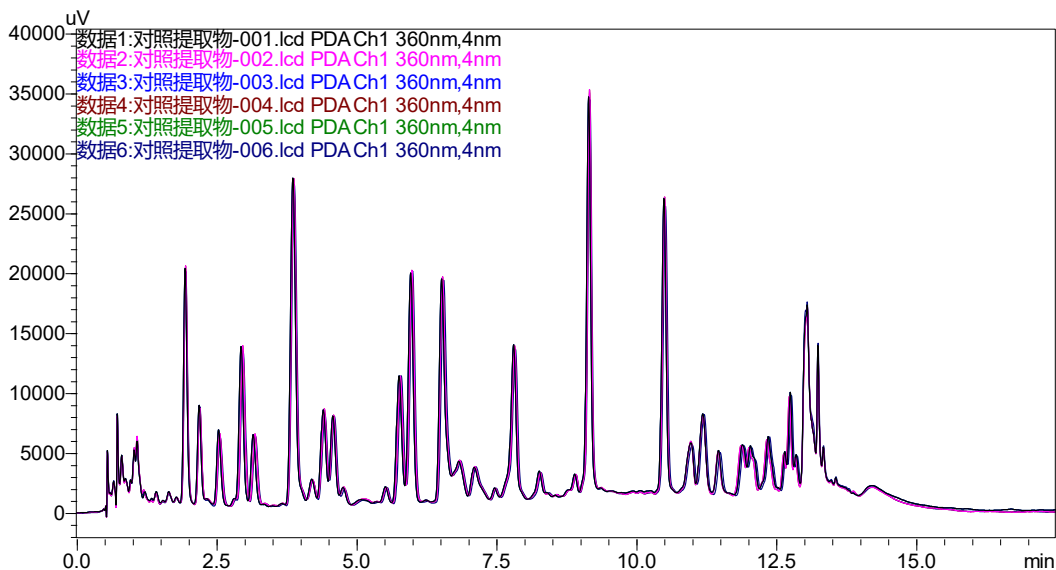


图 7 银杏叶提取物对照品溶液 6 针重复性色谱图

表 3 银杏叶提取物对照品溶液重复性结果 (n=6)

峰号	RSD% (2 mg/mL)	
	保留时间	峰面积
1	0.283	0.643
2	0.317	2.011
3	0.516	1.875
4	0.592	0.234
5	0.635	0.435
6	0.280	0.152
7	0.234	0.905
8	0.284	0.482
9	0.262	0.338
10	0.282	0.393
11	0.253	0.596
12	0.229	0.526
13	0.209	0.905

14	0.169	1.326
15	0.173	0.781
16	0.115	0.212
17	0.106	2.601

■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统，建立了银杏叶提取物指纹图谱的测定方法。该方法分析时间短，供试品和银杏叶对照提取物中 17 个主色谱峰分离效果良好。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算供试品和对照提取物的指纹图谱相似度，全峰相似度在 0.927 以上，满足药典中不低于 0.90 的规定。连续 6 针进样，17 个目标峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.106%~0.636% 和 0.152%~2.601% 之间，表明仪器精密度良好。因此，该方法可为银杏叶提取物的制剂质量控制提供帮助。