# 银杏酮酯

## Yinxing Tongzhi

本品为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L．的干燥叶经加工制成的提取物。

**【制法】** 取银杏叶粉碎，用 60%乙醇加热回流提取二次，每次 3 小时，滤过，滤液备用，药渣加水加热回流 0.5 小时，滤过，滤液与上述滤液合并，浓缩成稠膏，用热水溶解，静置冷却，滤过，滤液上大孔树脂（DA201）柱，依次用 18%乙醇、30%乙醇及 50%乙醇洗脱，18%乙醇、30%乙醇洗脱液浓缩至无醇味，上聚酰胺柱，用乙醇洗脱；50%乙醇洗脱液与乙醇洗脱液合并，浓缩至无醇味，浓缩液用环己烷萃取，弃去环己烷萃取液，浓缩液喷雾干燥，粉碎，即得。

**【性状】** 本品为棕黄色至黄棕色的粉末；有特殊香气，味苦。

**【鉴别】** （1）取本品 0.1g，加正丁醇 15ml，置水浴中温浸 15 分钟并时时振摇，放冷，滤过，滤液回收溶剂至干，残渣加乙醇 2ml 使溶解，作为供试品溶液。另取银杏叶对照提取物 0.1g，同法制成对照提取物溶液。照薄层色谱法（中国药典 2015 年版通则 0502）试验，吸取上述二种溶液各 3μl，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-丁酮-甲醇-水-甲酸（5：3：1：1：0.5）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 3%三氯化铝乙醇溶液，放置 20 分钟后，在紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照提取物色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

（2）【含量测定】萜类内酯项下供试品色谱中，应呈现与白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 对照品色谱峰保留时间相对应的色谱峰。

**【检查】** **水分** 不得过 5.0%（中国药典 2015 年版通则 0832 第二法）。

**炽灼残渣** 不得过 0.5%（中国药典 2015 年版通则 0841）。

**黄酮苷元峰面积比** 【含量测定】总黄酮醇苷项下的供试品色谱中，槲皮素与山柰素的峰面积比应为 0.8～1.2，异鼠李素与槲皮素的峰面积比应大于 0.15。

**总银杏酸** 照高效液相色谱-质谱法（中国药典 2015 年版通则 0512 和 0431）测定。

色谱、质谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以甲醇-1%冰醋酸溶液（90:10）为流动相，调节流动相比例或流速，使白果新酸保留时间在 4 分钟后出峰[待测成分全部出峰后以甲醇-1%冰醋酸溶液（99:1）充分

清洗至少 10 倍柱体积]；采用三重四极杆质谱检测器，电喷雾离子化（ESI）负离子模式下多反应监测（MRM），监测离子对见下表。

| 名称 | 母离子（m/z） | 定量离子对 (m/z) | 定性离子对 (m/z) |
|---|---|---|---|
| 白果新酸 | 319.2 | 319.2→275.2 | 319.2→106.1 |
| 银杏酸 C15:1 | 345.2 | 345.2→301.2 | 345.2→119.0 |
| 银杏酸 C17:1 | 373.3 | 373.3→329.3 | 373.3→106.0 |

对照品溶液的制备　分别取白果新酸对照品、银杏酸 C15:1 对照品、银杏酸 C17:1 对照品适量，精密称定，加甲醇制成每1ml 各含50μg 的混合溶液，作为对照品贮备液。临用前，分别精密量取对照品贮备液适量，加甲醇制成每 1ml 各含 0ng、10ng、20ng、50ng、100ng、200ng 的系列混合溶液，作为对照品溶液。

供试品溶液的制备　取本品粉末约 0.4g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 10ml，称定重量，超声处理(功率 180W，频率 42kHz)20 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，滤过，取续滤液，即得。

测定法　分别精密吸取上述对照品溶液和供试品溶液各 1μl，注入液相色谱-质谱仪，测定。

供试品溶液若检出与对照品保留时间相对应的色谱峰，且监测离子对与对照品监测离子对丰度比一致（相对离子丰度>50%，允许±20%相对偏差；相对离子丰度20%～50%，允许±25%相对偏差；相对离子丰度10%～20%，允许±30%相对偏差；相对离子丰度<10%，允许±50%相对偏差），可判定检出相应成分。

以对照品对峰面积为纵坐标，对照品浓度为横坐标，绘制标准曲线，从标准曲线上读出供试品溶液中相当于白果新酸、银杏酸 C15:1、银杏酸 C17:1 的量，计算，即得。

本品含总银杏酸以白果新酸（$C_{20}H_{32}O_3$）、银杏酸 C15:1（$C_{22}H_{34}O_3$）、银杏酸 C17:1（$C_{24}H_{38}O_3$）的总量计，不得过 5mg/kg。

**环己烷残留物**　照残留溶剂测定法(中国药典 2015 年版通则 0861 第二法)测定。

色谱条件与系统适用性试验　5%苯基-95%甲基聚硅氧烷毛细管色谱柱(柱长为 30m，内径为 0.53mm，膜厚度为 1.5μm)；柱温为程序升温：初始温度 56℃，

保持 13 分钟，再以每分钟 120℃升温至 150℃，维持 5 分钟。顶空进样，顶空瓶平衡温度为 80℃，平衡时间为 30 分钟。理论板数以环己烷峰计算应不低于 50000。

对照品溶液的制备　取环己烷适量，精密称定，加二甲基甲酰胺制成每 1ml 含 1.8μg 的溶液，作为对照品溶液。精密量取 5ml，置 20ml 顶空瓶中，密封，摇匀，即得。

供试品溶液的制备　取本品约 0.8g，精密称定，置 20ml 顶空瓶中，精密加入二甲基甲酰胺 5ml，密封瓶口，振摇使溶解，摇匀，即得。

测定法　分别精密量取对照品溶液和供试品溶液顶空瓶气体各 1ml，注入气相色谱仪，记录色谱图，测定，计算，即得。

本品含环己烷不得过 0.002%。

**【指纹图谱】**照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版通则 0512）测定。

**色谱条件与系统适用性试验**　以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 150mm，内径为 4.6mm，粒径为 5μm）；以乙腈为流动相 A，以 0.1%甲酸溶液为流动相 B，按照下表中的规定进行梯度洗脱，检测波长为 360nm；柱温为 30℃。理论板数按芦丁峰计算应不低于 10000。

| 时间（分钟） | 流动相 A（%） | 流动相 B（%） |
|---|---|---|
| 0～40 | 15→30 | 85→70 |
| 40～45 | 30→40 | 70→60 |
| 45～50 | 40 | 60 |
| 50～60 | 40→60 | 60→40 |
| 60～70 | 60 | 40 |

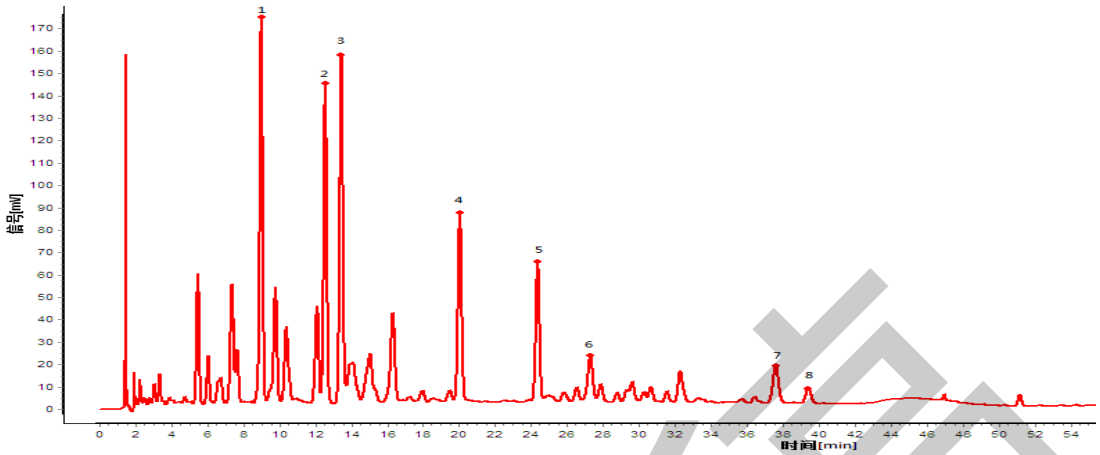
**参照物溶液的制备**　取芦丁对照品、槲皮素对照品、山柰素对照品、异鼠李素对照品适量，精密称定，加 75%甲醇制成每 1ml 各含 30μg 的混合溶液，即得。

**供试品溶液的制备**　取本品约 50mg，精密称定，加 75%甲醇 10ml，超声处理（参考频率：功率 300W，频率 50KHz）10 分钟，离心（每分钟 4000 转）5 分钟，取上清液，即得。

**测定法**　分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 10μl，注入液相色谱仪，测定，记录色谱图，即得。

供试品指纹图谱中应分别呈现与相应参照物色谱峰保留时间相对应的色谱

峰。按照中药指纹图谱相似度评价系统，以 8 个特征峰进行峰匹配，供试品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度不得低于 0. 90。




**对照指纹图谱**

1.芦丁　6 槲皮素　7 山柰素　8 异鼠李素

**参考积分参数：**斜率灵敏度为 5，峰宽为 0. 01，最小峰面积为 5，最小峰高为 1，谷底基线。

**【含量测定】　总黄酮**　对照品溶液的制备　取芦丁对照品适量，精密称定，加 70％乙醇制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液（必要时水浴微热使溶解），即得。

标准曲线的制备　精密量取对照品溶液 0.2ml、0.4ml、0.6 ml、0.8 ml、1.0 ml、1.2ml，分别置 10ml 量瓶中，各加水至 3ml，加醋酸－醋酸钠缓冲液（pH4.5）和 0.1mol/L 三氯化铝溶液各 2ml，摇匀，加 70％乙醇至刻度，摇匀；以相应的试剂为空白，照紫外－可见分光光度法（中国药典 2015 年版通则 0401）试验，在 270nm 波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线。

测定法　取本品 25mg，精密称定，置 50ml 量瓶中，用 70%乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀。精密量取 0.5ml，置 10ml 量瓶中，照标准曲线制备项下的方法，自“加水至 3ml”起依法测定吸收度，从标准曲线上读出供试品溶液中相当于芦丁的量，计算，即得。

本品按干燥品计算，含总黄酮以芦丁（$C_{27}H_{30}O_{16}$）计，应为 44.0%～55.0%。

**总黄酮醇苷**　照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验　以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以甲醇-0.4％磷酸溶液(49：51)为流动相；检测波长为 368nm。理论板数按槲皮素峰计算应不低于 4000。山柰素峰与异鼠李素峰的分离度应大于 1.5。

对照品溶液的制备　分别取槲皮素对照品、山柰素对照品、异鼠李素对照品

适量，精密称定，加甲醇制成每 1ml 含槲皮素 30μg、山柰素 30μg、异鼠李素 20μg 的混合溶液，即得。

供试品溶液的制备　取本品 75mg，精密称定，精密加入甲醇-25％盐酸溶液（4：1）的混合溶液 50ml，称定重量，置 85～90℃水浴中加热回流 30 分钟，取出，迅速冷却至室温，再称定重量，用上述混合溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法　分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10μl，注入液相色谱仪，测定，分别计算槲皮素、山柰素和异鼠李素的含量，按下式换算成总黄酮醇苷的含量，即得。

总黄酮醇苷含量＝(槲皮素含量+山柰素含量+异鼠李素含量)×2.51

本品按干燥品计算，含总黄酮醇苷应为 24.0%～35.0%。

**萜类内酯**　照高效液相色谱法（中国药典 2015 年版四部通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验　以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以甲醇为流动相 A，以水为流动相 B；按下表中的规定进行梯度洗脱；用蒸发光散射检测器检测。理论板数按白果内酯峰计算应不低于 4000。

| 时间（分钟） | 流动相 A（%） | 流动相 B（%） |
|---|---|---|
| 0~15 | 30 | 70 |
| 15~15.1 | 30→40 | 70→60 |
| 15.1~30 | 40 | 60 |

对照品溶液的制备　分别取白果内酯对照品、银杏内酯 A 对照品、银杏内酯 B 对照品和银杏内酯 C 对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1ml 含白果内酯 1.0mg、银杏内酯 A 0.7mg、银杏内酯 B 0.4mg 和银杏内酯 C 0.3mg 的混合溶液，即得。

供试品溶液的制备　取本品 0.1g，精密称定，置 50ml 具塞离心管（或适当具塞离心管）中，加 30％乙醇 15ml，摇匀，再加乙醚 20ml，密塞，摇匀，放置片刻，小心打开盖子，放气后再旋紧盖子，置涡旋振荡仪使成分涡旋振荡 1 分钟（频率每分钟 3000 次），离心（每分钟 4000 转）10 分钟，取上清液；残渣再加乙醚同法操作三次，每次15ml，合并乙醚液，减压 浓缩至近干（切勿蒸干），加甲醇适量超声使溶解，并转移至5ml 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀。离心，取上清液；或以0.45μm的微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

测定法　分别精密吸取对照品溶液 5μl、10μl 及供试品溶液 10μl，注入液相色谱仪，测定，用外标两点法对数方程分别计算白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 的含量，即得。

本品按干燥品计算，含萜类内酯以白果内酯($C_{15}H_{18}O_8$)、银杏内酯 A($C_{20}H_{24}O_9$)、银杏内酯 B($C_{20}H_{24}O_{10}$)和银杏内酯 C($C_{20}H_{24}O_{11}$)的总量计，应为 6.0%～12.0%。

**【贮藏】**密封。

**【制剂】**银杏酮酯制剂

公示稿