

测试报告

样品信息			
样品名称	银杏叶提取物	编号	NJ201506-001
样品重量	/	剂型	/
收样日期	2015/6/3	测试期间	2015/6/4~6/10
样品描述	各对照品粉末; 银杏叶提取物粉末		
测试需求			
测试成分	银杏叶提取物中萜类内酯、总黄酮醇苷含量测定, 总银杏叶酸限量测定		
参考标准			
参考标准	中国药典	标样	有
仪器信息			
测试仪器	高效液相色谱仪	仪器型号	岛津 LC-20A

一、银杏叶提取物中萜类内酯

● 色谱条件:

色谱柱:	月旭 Ultimate® LP-C18 (4.6×250mm, 5μm)
流动相:	正丙醇-四氢呋喃-水=1:15:84
检测器:	ELSD: 气流速 3.1L/min, 漂移管温度 100℃
柱温:	30℃
流速:	1.0ml/min
进样量:	对照分别进 5μl 和 10μl, 样品进 10μl

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

注意事项:	无
-------	---

● **流动相配置:**

正丙醇-四氢呋喃-水=1:15:84

● **样品溶液配制:**

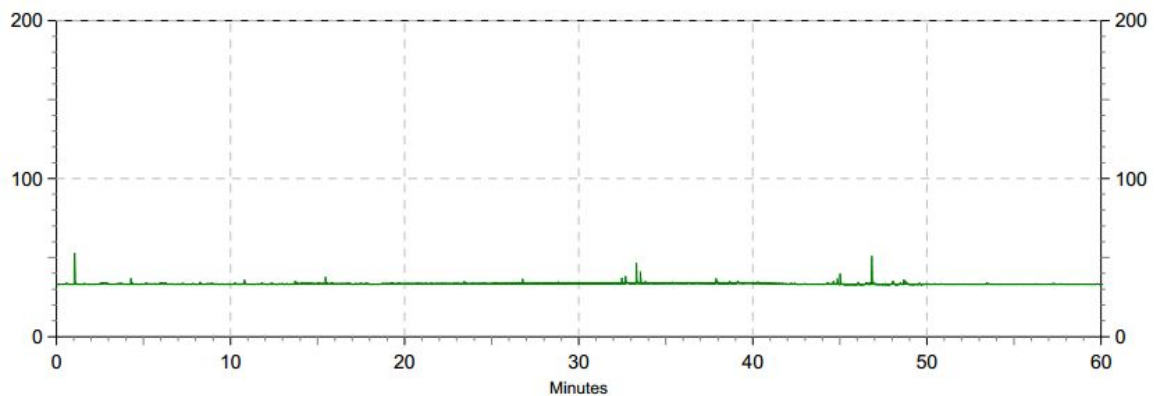
单一对照溶液: 分别取白果内酯对照品 10.2mg、银杏内酯 A 对照品 9.9mg、银杏内酯 B 对照品 10.1mg、银杏内酯 C 对照品 10.3mg, 分别加甲醇溶解并定容至 1ml, 作为各对照品的单一对照溶液;

混合对照溶液: 分别取白果内酯对照溶液 200 μ l、银杏内酯 A 对照溶液 100 μ l、银杏内酯 B 对照溶液 100 μ l、银杏内酯 C 对照溶液 100 μ l, 置 1ml 容量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 作为混合对照溶液;

供试品溶液: 取本品约 0.15g, 精密称定, 加水 10ml, 置水浴中温热使溶散, 加 2% 盐酸溶液 2 滴, 用乙酸乙酯振摇提取 4 次(15ml、10ml、10ml、10ml), 合并提取液, 用 5% 醋酸钠溶液 20ml 洗涤, 分取醋酸钠液, 再用乙酸乙酯 10ml 洗涤, 合并乙酸乙酯提取液及洗涤液, 用水洗涤 2 次, 每次 20ml, 分取水液, 用乙酸乙酯 10ml 洗涤, 合并乙酸乙酯液, 回收溶剂至干, 残渣用甲醇溶解并转移至 5ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

● **谱图和数据:**

(1) 空白溶剂 (甲醇) 的 HPLC-ELSD 图



(2) 白果内酯对照溶液的 HPLC-ELSD 图

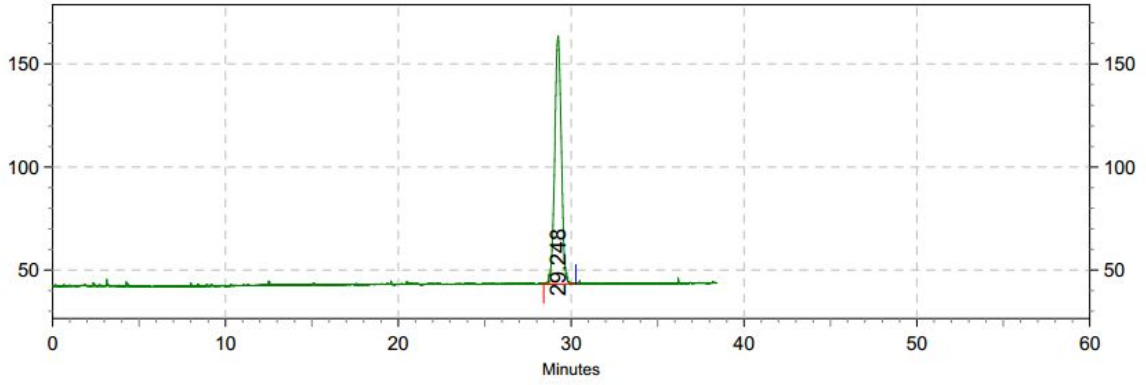
声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

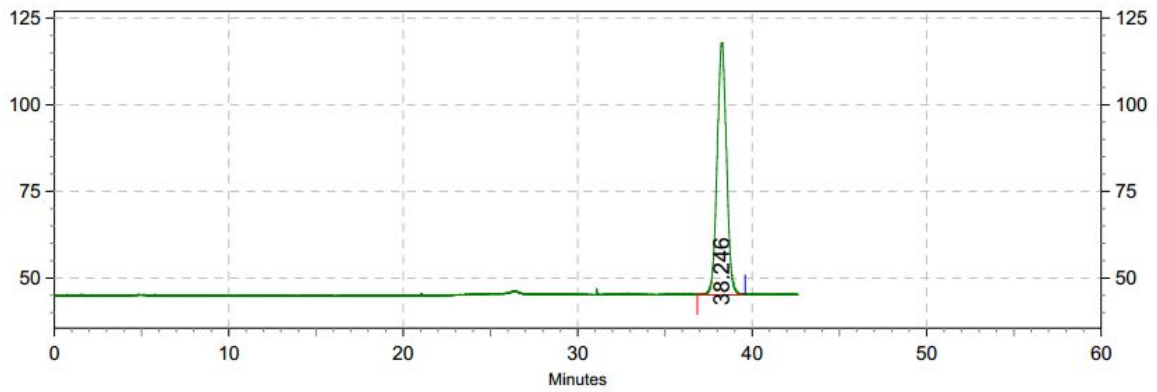
Tel:400-808-6760

邮编: 321000

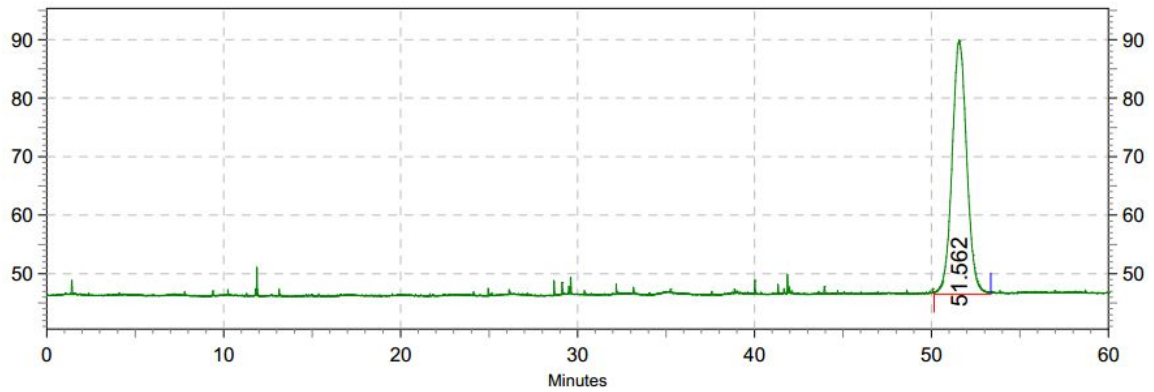
E-mail:zaijiechen@welchmat.com



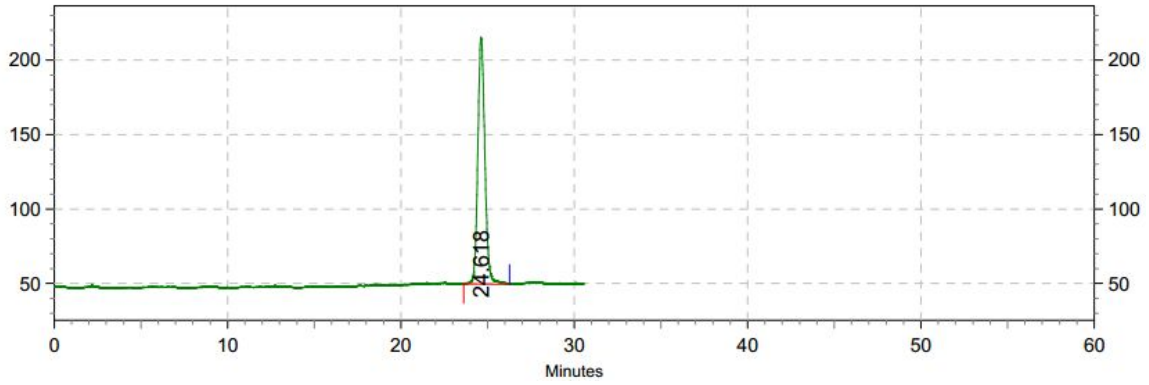
(3) 银杏内酯 A 对照溶液的 HPLC-ELSD 图



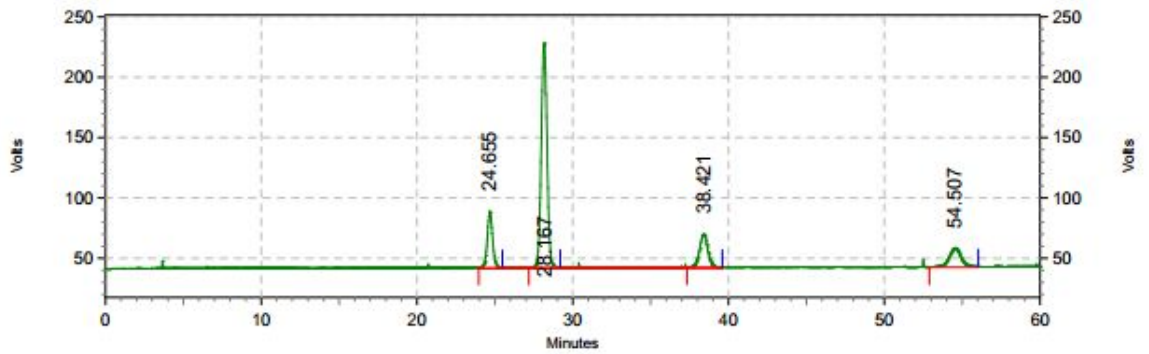
(4) 银杏内酯 B 对照溶液的 HPLC-ELSD 图



(5) 银杏内酯 C 对照溶液的 HPLC-ELSD 图



(6) 混合对照溶液的 HPLC-ELSD 图 (进样 5µl)



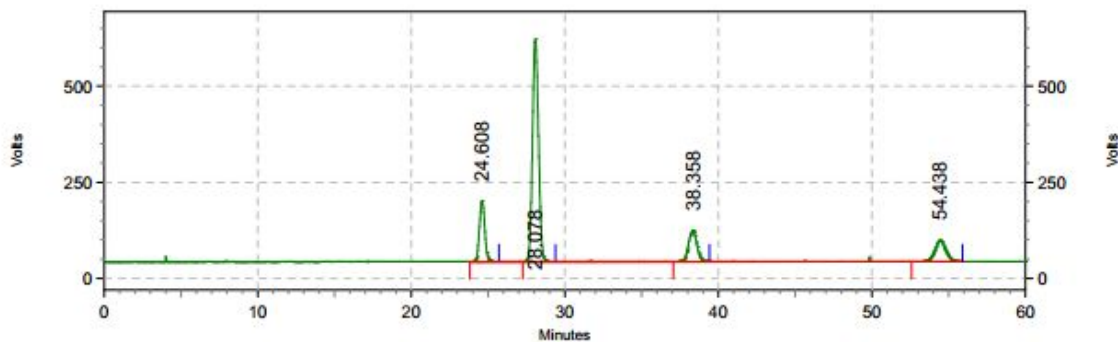
elsd6000

Results

保留时间	面积	面积百分比	理论塔板数(USP)	分离度(USP)	不对称(10%)
24.655	1134784	14.399	24222	0.00000	1.11605
28.167	4854879	61.603	27150	5.33073	1.00737
38.421	1052958	13.361	24976	12.38294	0.94871
54.507	838250	10.637	26223	13.87394	1.09335

Totals	7880871	100.000			
---------------	----------------	----------------	--	--	--

(7) 混合对照溶液的 HPLC-ELSD 图 (进样 10µl)



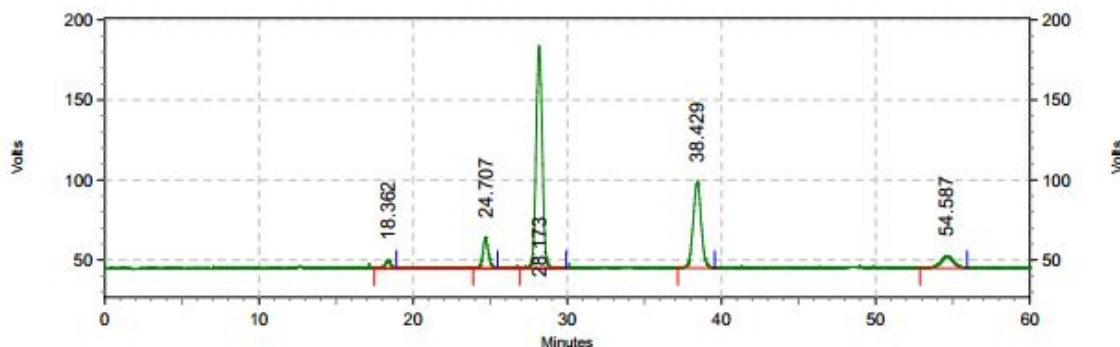
elsd6000

Results

保留时间	面积	面积百分比	理论塔板数(USP)	分离度(USP)	不对称(10%)
24.608	3857013	15.084	23073	0.00000	1.04839
28.078	15855837	62.011	23505	5.02647	1.09273
38.358	3105421	12.145	23996	11.93154	0.95501
54.438	2751116	10.759	28159	14.05578	1.03154

Totals	25569387	100.000			
---------------	-----------------	----------------	--	--	--

(8) 供试品溶液的 HPLC-ELSD 图 (进样 10μl)



elsd6000

Results

保留时间	面积	面积百分比	理论塔板数(USP)	分离度(USP)	不对称(10%)
18.362	137777	1.978	12803	0.00000	0.84464
24.707	494249	7.095	23636	9.82177	1.00161
28.173	3937698	56.526	23827	5.04984	1.02615
38.429	1951794	28.018	25793	12.15738	0.99897
54.587	444682	6.383	23299	13.53438	1.02241

Totals	6966200	100.000			
---------------	----------------	----------------	--	--	--

(9) 萜类内酯含量计算结果

	白果内酯	银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C	总内酯
含量	3.0%	2.5%	1.2%	1.1%	7.8%

检测方法:

萜类内酯 照高效液相色谱法 (附录VI D) 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;以正丙醇-四氢呋喃-水(1:15:84)为流动相;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 2500。

对照提取物溶液的制备 取银杏叶总内酯对照提取物适量,精密称定,加甲醇制成每 1ml 含 2.5mg 的溶液,即得。

供试品溶液的制备 取本品约 0.15g,精密称定,加水 10ml,置水浴中温热使溶散,加 2% 盐酸溶液 2 滴,用乙酸乙酯振摇提取 4 次(15ml、10ml、10ml、10ml),合并提取液,用 5% 醋酸钠溶液 20ml 洗涤,分取醋酸钠液,再用乙酸乙酯 10ml 洗涤,合并乙酸乙酯提取液及洗涤液,用水洗涤 2 次,每次 20ml,分取水液,用乙酸乙酯 10ml 洗涤,合并乙酸乙酯液,回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解并转移至 5ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

测定法 分别精密吸取对照提取物溶液 5 μ l、10 μ l,供试品溶液 5~10 μ l,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 (C₁₅H₁₈O₈)、银杏内酯 A (C₂₀H₂₄O₉)、银杏内酯 B (C₂₀H₂₄O₁₀) 和银杏内酯 C (C₂₀H₂₄O₁₁) 的总量计,不得少于 6.0%。

二、总黄酮醇苷的检测:

● 色谱条件:

色谱柱:	月旭 Ultimate®LP-C18 (4.6*250mm, 5 μ m)
流动相:	甲醇-0.4%磷酸溶液 (50:50) 混合
检测波长:	360nm
柱温:	30°C

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路 855 号研发展示中心 01 号 6 楼

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

流速:	1.0ml/min
进样量:	10 μ l
注意事项:	/

● 流动相配置:

甲醇-0.4%磷酸溶液 (50:50) 分别过滤后进行混合;

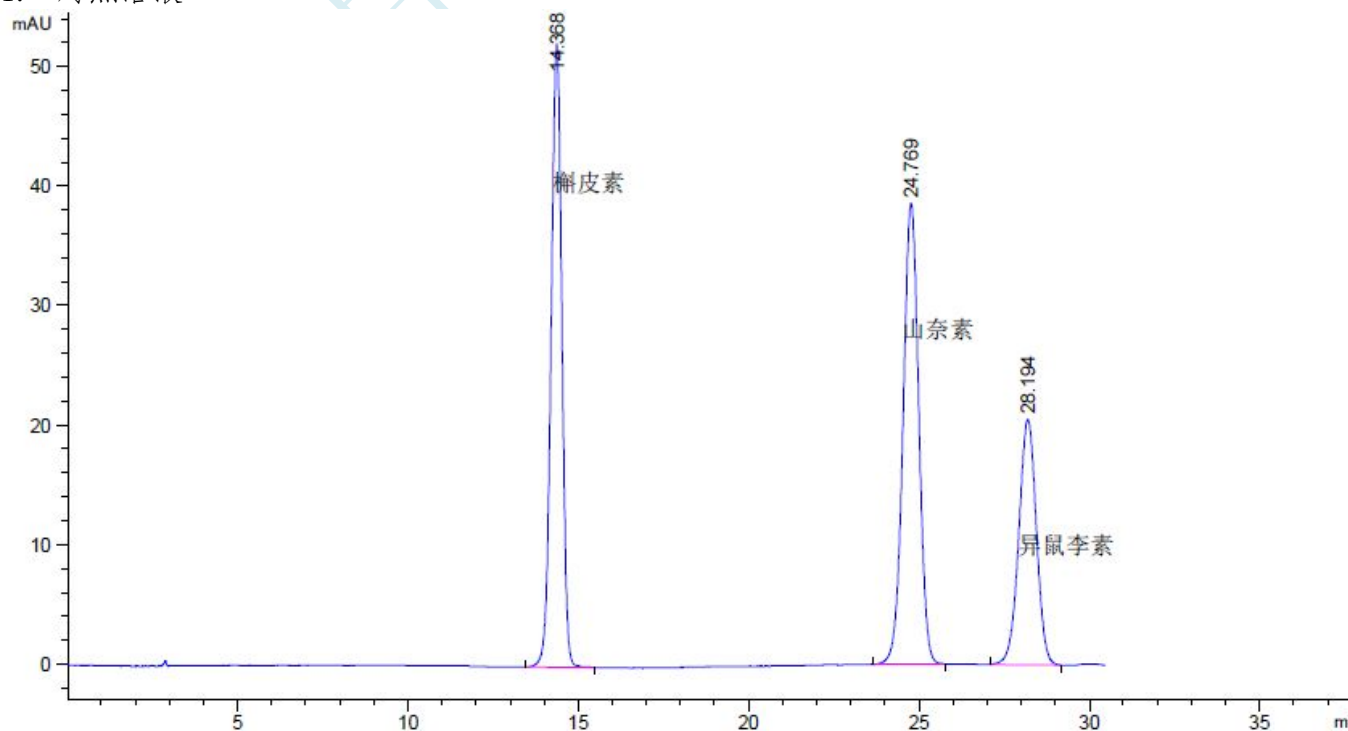
● 样品处理方法:

对照溶液制备: 分别取槲皮素对照品、山奈素 (山奈酚) 对照品、异鼠李素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1ml 分别含 31.4 μ g、32.5 μ g、20.4 μ g 的混合溶液, 混匀后过滤即得;

供试品溶液制备: 取本品 35.71mg, 精密称定, 加甲醇-25%盐酸溶液 (4:1) 的混合溶液 25ml, 置水浴中 85 度加热回流 30 分钟, 迅速冷却至室温, 转移至 50ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 虑过, 取续滤液, 即得。

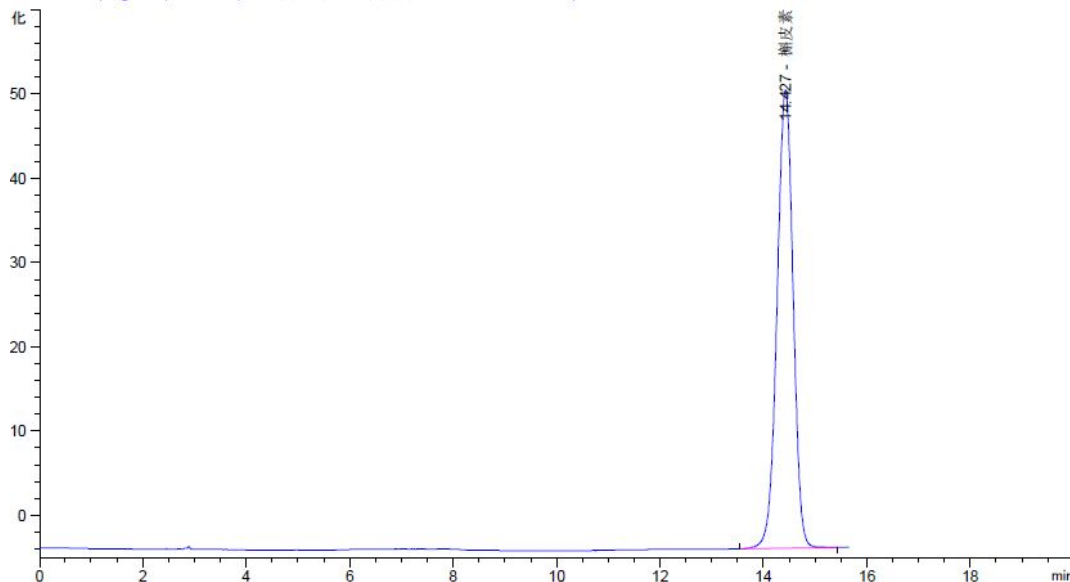
● 谱图和数据:

1. 对照溶液



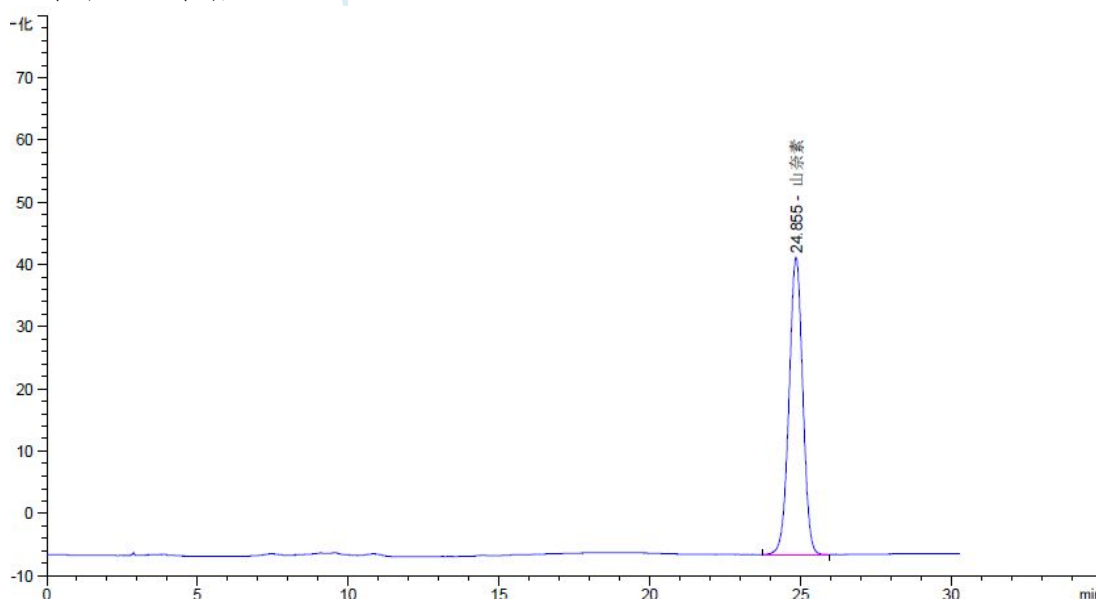
保留时间 [min]	k'	峰面积 [mAU*s]	峰高 [mAU]	对称 因子	峰宽 [min]	塔板数	分离度	选择性
14.368	-	1147.48267	52.17032	1.07	0.3385	9982	-	-
24.769	-	1227.95215	38.58691	1.02	0.4904	14132	14.74	1.72
28.194	-	734.99176	20.54571	1.03	0.5502	14551	3.87	1.14

2. 槲皮素



保留时间 [min]	k'	峰面积 [mAU*s]	峰高 [mAU]	对称 因子	峰宽 [min]	塔板数	分离度	选择性
14.427	-	1012.29553	46.83534	1.05	0.3333	10378	-	-

3. 山奈素 (山奈酚)



声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

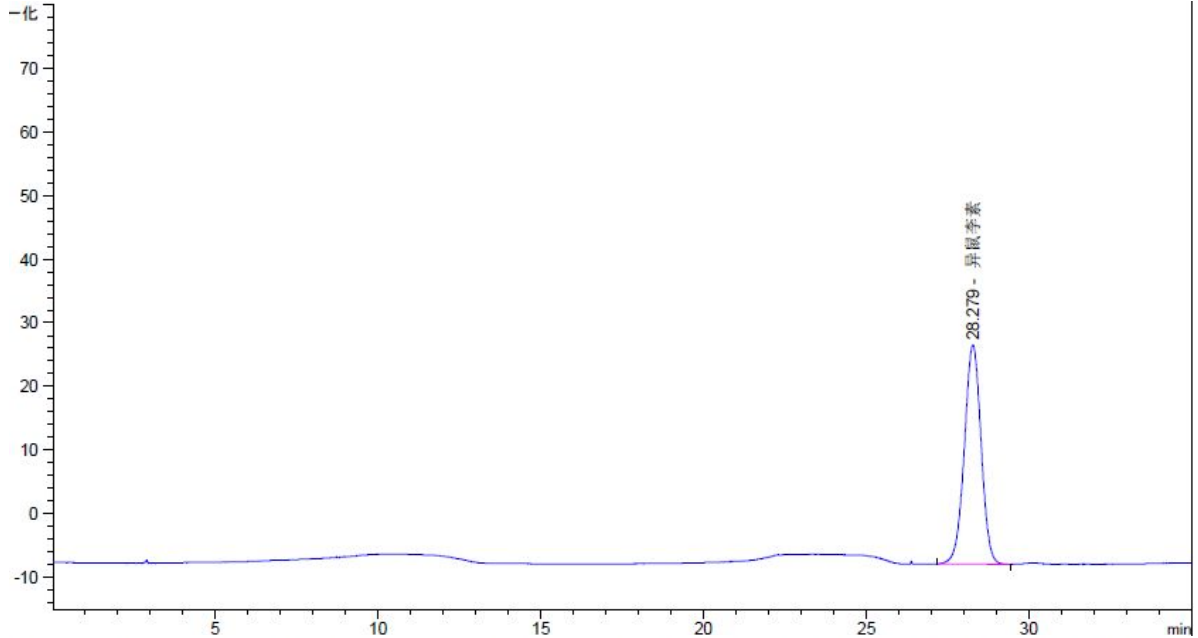
Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

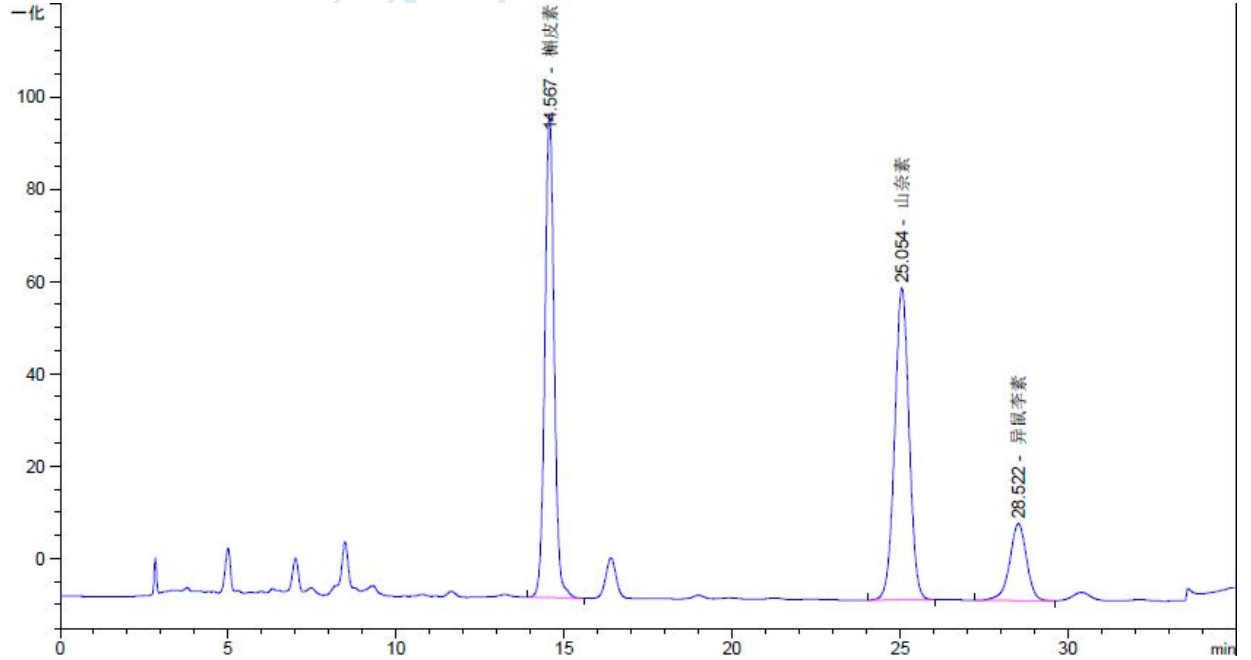
保留时间 [min]	k'	峰面积 [mAU*s]	峰高 [mAU]	对称 因子	峰宽 [min]	塔板数	分离度	选择性
24.855	-	1097.39563	34.65198	1.02	0.4851	14542	-	-

4. 异鼠李素



保留时间 [min]	k'	峰面积 [mAU*s]	峰高 [mAU]	对称 因子	峰宽 [min]	塔板数	分离度	选择性
28.279	-	678.02393	18.94346	1.02	0.5425	15052	-	-

5. 供试品



保留时间 [min]	k'	峰面积 [mAU*s]	峰高 [mAU]	对称 因子	峰宽 [min]	塔板数	分离度	选择性
14.567	-	1698.94775	88.06213	0.93	0.2901	13962	-	-
25.054	-	1697.13647	56.92369	0.98	0.4533	16918	16.58	1.72
28.522	-	493.28329	14.06954	1.06	0.5133	17107	4.21	1.14

● 结论

	槲皮素	山柰素	异鼠李素
供试品	6.641%	6.416%	1.955%
总黄酮醇苷含量	(6.641+6.416+1.955) *2.51=37.680%		
标准要求: 总黄酮醇苷含量不得低于 24%	符合		

槲皮素理论塔板数为 9982, 大于 2500, 满足要求
检测方法

【含量测定】总黄酮醇苷 照高效液相色谱法(附录VI D)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(50:50)为流动相; 检测波长为 360nm。理论板数按槲皮素峰计算应不低于 2500。

对照品溶液的制备 取槲皮素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1ml 含 30μg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备 取本品约 35mg, 精密称定, 加甲醇-25%盐酸溶液(4:1)的混合溶液 25ml, 置水浴中加热回流 30 分钟, 迅速冷却至室温, 转移至 50ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 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, 以槲皮素对照品的峰面积为对照, 分别按下表相对应的校正因子计算槲皮素、山柰素和异鼠李素的含量, 用待测成分色谱峰与槲皮素色谱峰的相对保留时间确定槲皮素、山柰素和异鼠李素的峰位, 其相对保留时间应在规定值的±5%范围之内(若相对保留时间偏离超过 5%, 则应以相应的被替代对照品确证为准),

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路 855 号研发展示中心 01 号 6 楼

Tel:400-808-6760

邮编: 321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

即得。相对保留时间及校正因子 (F) 见下表:

待测成分 (峰)	相对保留时间	F
槲皮素	1.00	1.0000
山柰素	1.77	1.0020
异鼠李素	2.00	1.0890

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, 含总黄酮醇苷不得少于 24.0%。

结果表明:

采用月旭 Ultimate® LP-C18 (4.6×250mm, 5μm) 测定银杏叶提取物中的萜类内酯, 样品中各物质分离良好, 且含量测定结果符合药典要求。

三、总银杏酸的检测

● 色谱条件:

色谱柱:	月旭 Ultimate® LP-C18 (4.6*150mm, 5 μ m)
流动相:	流动相 A: 0.1%三氟乙酸水溶液 流动相 B: 0.1%三氟乙酸乙腈
检测波长:	310nm
柱温:	30℃
流速:	1.0ml/min
进样量:	50μl
注意事项:	

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路 855 号研发展示中心 01 号 6 楼

Tel:400-808-6760

邮编: 321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

● **流动相配置:**

流动相 A: 0.1%三氟乙酸水溶液

流动相 B: 0.1%三氟乙酸乙腈

运行梯度:

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	25	75
30	10	90
35	10	90
36	75	25
45	75	25

● **样品溶液的配置:**

空白溶液: 甲醇

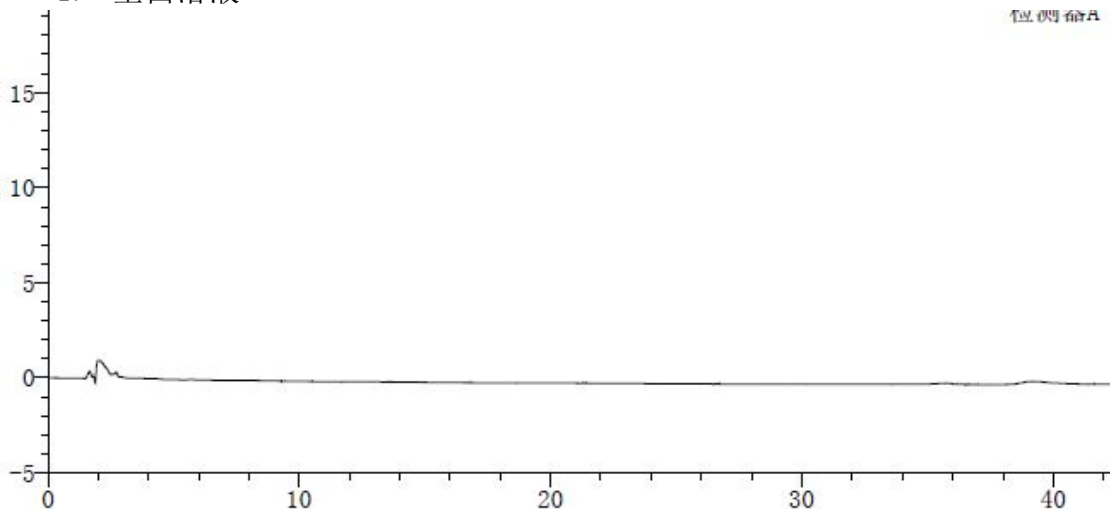
对照溶液: 精密称取白果新酸对照品用甲醇溶解定容至每1ml中含有1ug的溶液

定位用对照溶液: 精密称取总银杏酸对照品适量, 加甲醇溶解稀释至每1ml中含有20ug的溶液

供试品溶液: 精密称取2.0g样品, 加入10ml甲醇超声溶解, 放冷, 用甲醇补足缺失的重量, 摇匀, 过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

● **谱图和数据:**

1. 空白溶液



声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

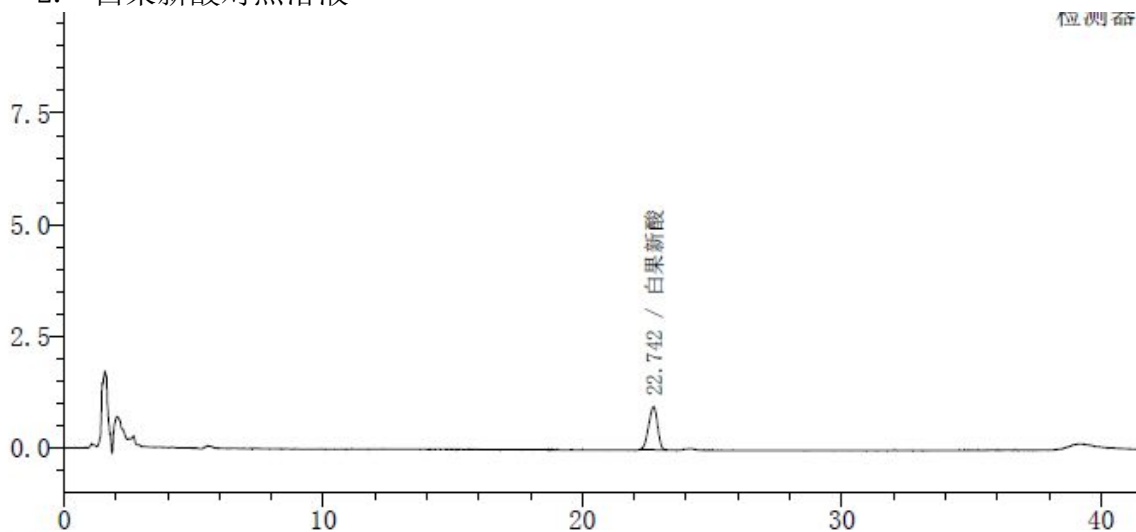
Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

Tel:400-808-6760

邮编: 321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com

2. 白果新酸对照溶液

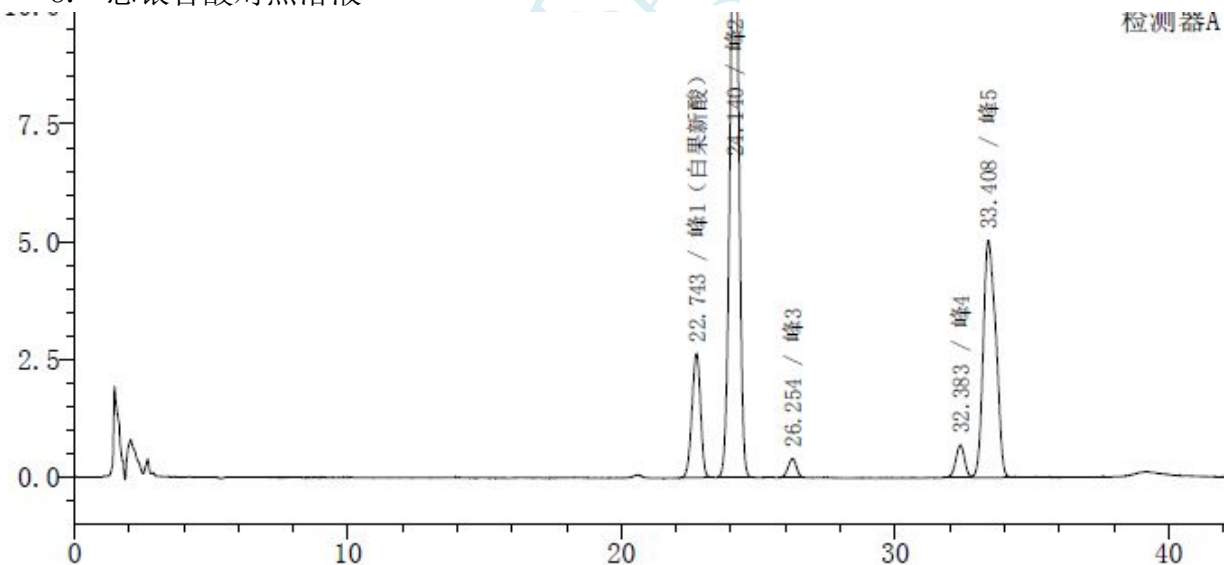


<峰表>

检测器A 310nm

峰号	保留时间	化合物名	面积	高度	面积%	理论塔板数(USP)	分离度(USP)
1	22.742	白果新酸	22931	959	100.000	19404	—
总计			22931	959	100.000		

3. 总银杏酸对照溶液



<峰表>

检测器A 310nm

峰号	保留时间	化合物名	面积	高度	面积%	理论塔板数(USP)	分离度(USP)
1	22.743	峰1 (白果新酸)	57148	2626	10.653	24414	—
2	24.140	峰2	294649	13220	54.923	26388	2.374
3	26.254	峰3	8554	401	1.594	33724	3.626
4	32.383	峰4	15587	686	2.905	46747	10.468
5	33.408	峰5	160536	5033	29.924	23853	1.400
总计			536474	21966	100.000		

4. 供试品溶液

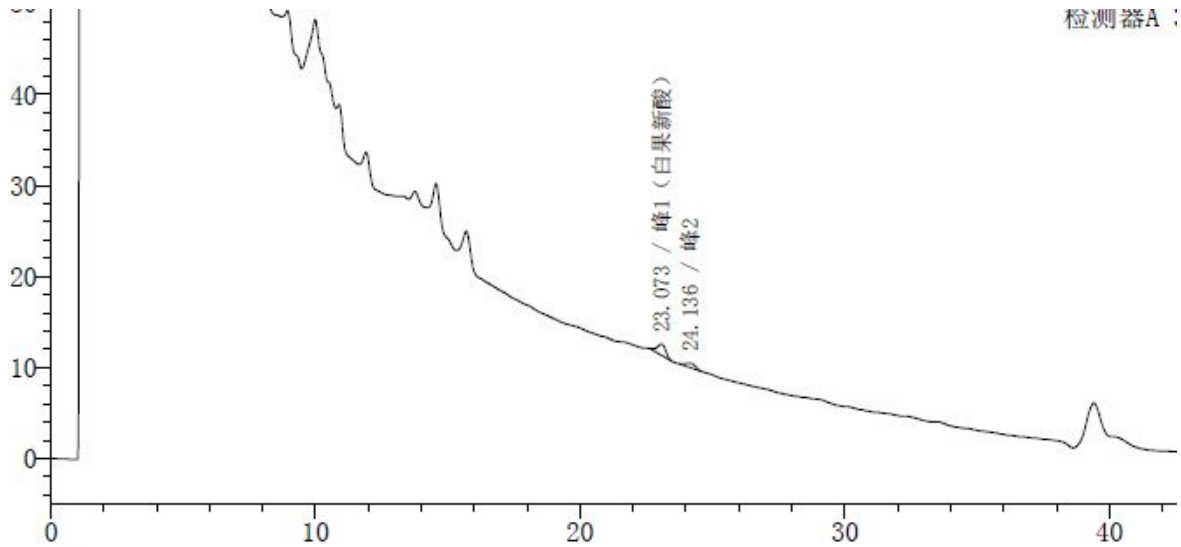
声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市仙缘路855号研发展示中心01号6楼

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:zaijiechen@welchmat.com



<峰表>

检测器A 310nm

峰号	保留时间	化合物名	面积	高度	面积%	理论塔板数(USP)	分离度(USP)
1	23.073	峰1 (白果新酸)	27891	1229	70.269	24225	—
2	24.136	峰2	11801	445	29.731	21032	1.690
总计			39692	1674	100.000		

● 结论

由外标法计算得样品中总银杏酸含量为 0.739868ug/g 小于百万分之十。

● 检测方法

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, 柱内径为 4.6mm, 粒径为 5μm); 以含 0.1% 三氟乙酸的乙腈为流动相 A, 含 0.1% 三氟乙酸的水为流动相 B, 按下表中的规定进行梯度洗脱; 检测波长为 310nm。理论板数按白果新酸峰计算应不低于 4000。

时间 (分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~30	75→90	25→10
30~35	90	10
35~36	90→75	10→25
36~45	75	25

对照品溶液的制备 取白果新酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1ml 含 1 μ g 的溶液, 作为对照品溶液; 另取总银杏酸对照品适量, 用甲醇制成每 1ml 含 20 μ g 的溶液, 作为定位用对照溶液。

供试品溶液的制备 取本品粉末约 2g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10ml, 称定重量, 超声使其溶解, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

测定法 精密吸取供试品溶液、对照品溶液及定位用对照溶液各 50 μ l, 注入液相色谱仪, 计算供试品溶液中与总银杏酸对照品相应色谱峰的总峰面积, 以白果新酸对照品外标法计算总银杏酸含量, 即得。

本品含总银杏酸不得过百万分之十。

报告签字

测试: 汪少峰、张厚才、李良祥

日期: 2015-6-10

审核: 陈再洁

日期: 2015-6-10