銀杏葉

圖1　銀杏葉外觀圖

1. 名稱

藥材正名：Folium Ginkgo

中文名：銀杏葉

漢語拼音名：Yinxingye

2. 來源

本品為銀杏科植物銀杏 *Ginkgo biloba* L. 的乾燥葉。秋季葉尚綠時採收，及時乾燥。

3. 性狀

本品黃綠色至淺棕黃色，呈扇形，具二叉狀平行脈，長 3.5 - 12 cm，寬 3 - 15 cm，2 分裂，多皺折或破碎。上緣呈不規則的波狀彎曲，有的中間凹入，葉基楔形，葉柄長 2 - 8 cm。體輕，氣微，味微苦（圖1）。

4. 鑒別

4.1 顯微鑒別（*附錄III*）

橫切面

葉柄：

表皮細胞1 列，排列整齊，外被角質層，有時可見內陷氣孔。表皮下和角隅處有厚角組織。周圍分佈有分泌道。韌皮部含草酸鈣簇晶。維管束外韌型，成對排列（圖2）。

葉片：

上表皮細胞1 列，外被角質層。兩個維管束之間常存在一個離生分泌道。葉肉細胞中含葉綠素，有的細胞內含草酸鈣簇晶。維管束近等距離分佈於葉肉中，維管束內有少數纖維。下表皮細胞1 列，可見內陷氣孔（圖2）。

粉末

黃綠色。草酸鈣簇晶散在，直徑23-55 µm，偏光顯微鏡下呈多彩狀；管胞單個或數個相連，具緣紋孔，直徑8-14 µm；纖維單個或成束，直徑10-20 µm；葉上表皮細胞類長方形，可長達108 µm，闊達56 µm，外壁呈波狀彎曲；氣孔沉陷於表皮細胞下（圖3）。

4.2 薄層色譜鑒別 *[附錄IV(A)]*

對照品溶液

白果內酯對照品溶液

取白果內酯對照品（圖4）1.0 mg，溶解於1 mL甲醇中。

銀杏內酯A對照品溶液

取銀杏內酯A對照品（圖4）1.0 mg，溶解於1 mL甲醇中。

銀杏內酯B對照品溶液

取銀杏內酯B對照品（圖4）1.0 mg，溶解於1 mL甲醇中。

銀杏內酯C對照品溶液

取銀杏內酯C對照品（圖4）1.0 mg，溶解於1 mL甲醇中。

銀杏內酯J對照品溶液

取銀杏內酯J對照品（圖4）1.0 mg，溶解於1 mL甲醇中。

展開劑

製備環己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲醇（10:8:8:0.6, v/v）的混合溶液。

顯色劑

醋酐。

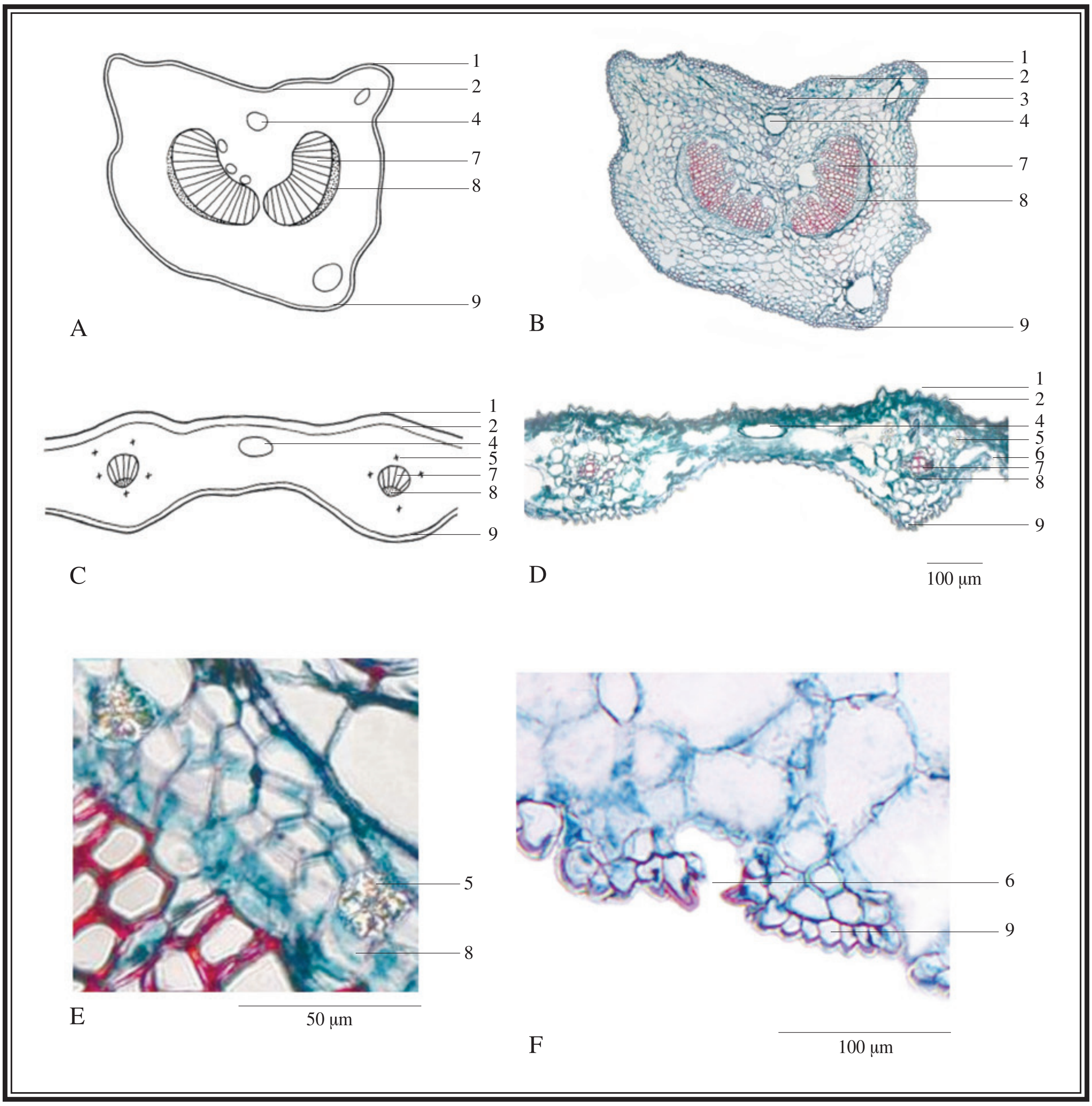


圖 2　銀杏葉橫切面顯微特徵圖

A. 葉柄簡圖　B. 葉柄橫切面圖　C. 葉片簡圖　D. 葉片橫切面圖
E. 葉柄維管束　F. 下表皮氣孔

1. 角質層　2.上表皮　3. 厚角組織　4. 分泌道　5. 草酸鈣簇晶　6. 氣孔
7. 木質部　8. 韌皮部　9. 下表皮

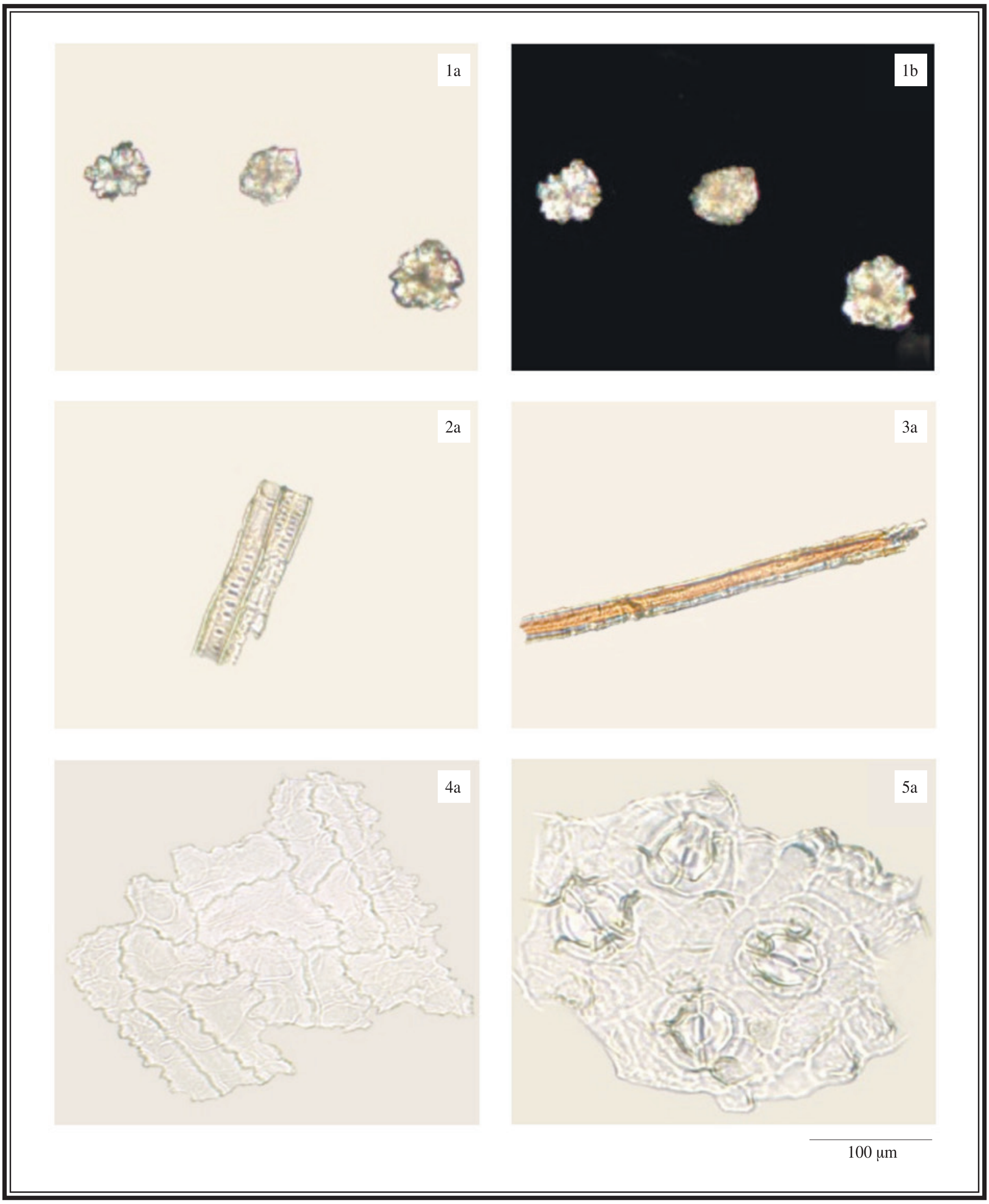


圖 3　銀杏葉粉末顯微特徵圖

1. 草酸鈣簇晶　2. 管胞　3. 纖維　4. 上表皮細胞
5. 鑲嵌在下表皮細胞中的氣孔

a. 光學顯微鏡下特徵　b. 偏光顯微鏡下特徵

供試品溶液

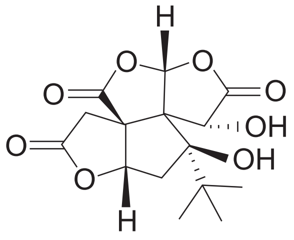
取本品粉末 2.0 g，置 50-mL 離心管中，加 10% 甲醇 20 mL，超聲（240 W）處理 30 分鐘，濾過，取濾液轉移於 50-mL 錐形瓶中，用 2% 甲醇 5 mL 洗滌殘渣，濾過，取洗液轉移於同一錐形瓶中，載入預先分別用甲醇 10 mL 和 2% 甲醇 10 mL 預處理的十八烷基鍵合硅膠（ODS）固相萃取柱（6 mL, 1000 mg），收集洗脫液，轉移於 50-mL 圓底燒瓶中，再用 50% 甲醇 10 mL 洗脫，收集洗脫液，轉移於同一圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器於 80℃ 減壓蒸乾。殘渣溶於 2 mL 甲醇，超聲（240 W）處理 5 分鐘，用 0.45-μm 微孔濾膜（nylon）濾過，即得。

操作程序

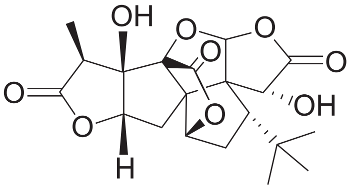
照薄層色譜法 [附錄 IV(A)] 進行。分別吸取白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C、銀杏內酯 J 對照品溶液各 1 μL 和供試品溶液 5 μL，點於同一高效硅膠 F_{254} 薄層板上 [預先浸入 5%（w/v）醋酸鈉溶液 20 秒，晾乾，在 70℃ 加熱 30 分鐘。置乾燥器中放冷]。將薄層板置雙槽層析缸一槽中，加上述新製備的展開劑於另一槽內，預先飽和 15 分鐘，再將展開劑小心傾入置薄層板的槽中，展開約 8 cm，取出，標記溶劑前沿，晾乾。在醋酐蒸氣中熏約 15 分鐘，在約 140℃ 加熱約 30 分鐘。置紫外光（366 nm）下檢視，並計算 R_f 值。

供試品色譜應顯出與白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯 J 色澤相同、R_f 值相應的特徵斑點或條帶。

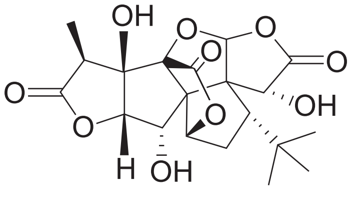
(i)



(ii)



(iii)



(iv)

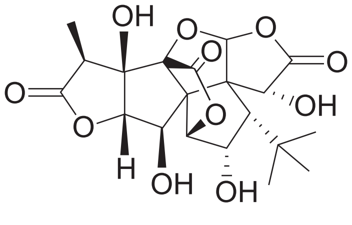
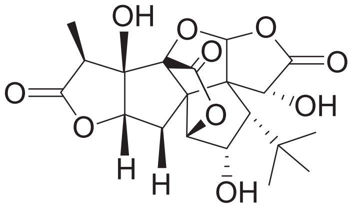
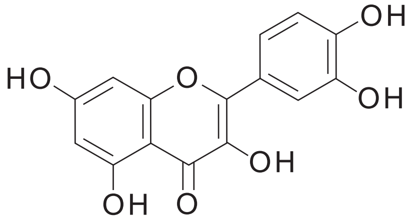


圖 4 化學結構式 (i) 白果內酯 (ii) 銀杏內酯 A (iii) 銀杏內酯 B (iv) 銀杏內酯 C

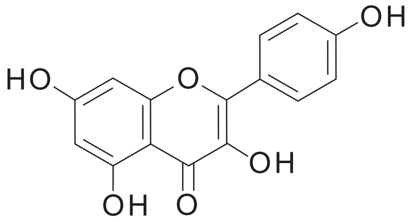
(v)



(vi)



(vii)



(viii)

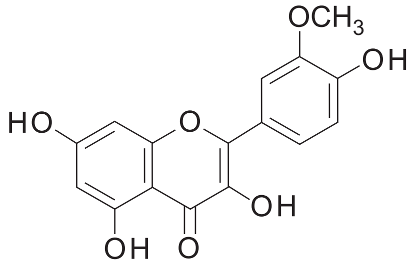


圖 4　化學結構式　(v) 銀杏內酯 J　(vi) 槲皮素　(vii) 山柰素
(viii) 異鼠李素

4.3　高效液相色譜指紋圖譜法 *（附錄XII）*

對照品溶液

白果內酯對照品溶液Std-FP (540 mg/L)

取白果內酯對照品5.4 mg，溶解於10 mL 50% 甲醇中。

銀杏內酯A對照品溶液Std-FP (300 mg/L)

取銀杏內酯A對照品3.0 mg，溶解於10 mL 50% 甲醇中。

銀杏內酯B對照品溶液Std-FP (240 mg/L)

取銀杏內酯B對照品2.4 mg，溶解於10 mL 50% 甲醇中。

銀杏內酯C對照品溶液Std-FP (240 mg/L)

取銀杏內酯C對照品2.4 mg，溶解於10 mL 50% 甲醇中。

銀杏內酯J對照品溶液Std-FP (180 mg/L)

取銀杏內酯J對照品1.8 mg，溶解於10 mL 50% 甲醇中。

試劑

磷酸鹽緩衝液

取磷酸氫二鈉1.19 g和磷酸二氫鉀8.25 g，溶解於1000 mL水，用磷酸調pH值至5.8。

供試品溶液

取本品粉末2.5 g，置50-mL離心管中，加90% 甲醇40 mL，超聲（240 W）處理30分鐘，離心5分鐘（約4500 × *g*）。取上清液轉移於500-mL圓底燒瓶中，重覆提取2次，合併提取液，用旋轉蒸發器於約50℃減壓蒸乾。殘渣溶於10 mL磷酸鹽緩衝液，超聲（240 W）處理5分鐘，載入層析用硅藻土固相淨化柱（能載20 mL溶液），重覆洗滌圓底燒瓶2次，每次用5 mL磷酸鹽緩衝液，載入淨化柱。15分鐘後用乙酸乙酯100 mL洗脫，收集洗脫液於200-mL圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器於約50℃減壓蒸乾。殘渣溶於5 mL甲醇，轉移於10-mL量瓶中，用5 mL水洗滌燒瓶並轉移於同一量瓶中，超聲（240 W）處理15分鐘，加50% 甲醇至刻度，用0.45-µm微孔濾膜（PTFE）濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：蒸發光散射檢測器 [漂移管溫度：102℃；霧化氣（N_2）流速：2.8 L/min]；4.6 × 250 mm十八烷基鍵合硅膠（5 µm）填充柱；流速約1.0 mL/min。色譜洗脫程序如下（表1）：

表1　色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	水 (%, v/v)	甲醇 (%, v/v)	洗脫
0 – 45	75→52	25→48	綫性梯度

系統適用性要求

分別吸取白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J對照品溶液Std-FP各20 µL，注入液相色譜儀，至少重複5次。系統適用性參數的要求如下：白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J 的峰面積相對標準偏差均應不大於5.0%；白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰的保留時間相對標準偏差均應不大於2.0%；理論塔板數按白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰計算均應分別不低於15000、35000、40000、20000和20000。

供試品測試中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰與鄰近峰之間的分離度均應不低於1.5（圖5）。

操作程序

分別吸取白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯 J 對照品溶液 Std-FP 和供試品溶液各20 µL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。測定對照品溶液 Std-FP 色譜圖中白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯J峰的保留時間，及供試品溶液色譜圖中 5 個特徵峰（圖 5）的保留時間。在相同液相色譜條件下，與相應對照品溶液 Std-FP色譜圖中各峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C 和銀杏內酯J峰。二色譜圖中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C 和銀杏內酯J峰相應的保留時間相差均應不大於 2.0%。

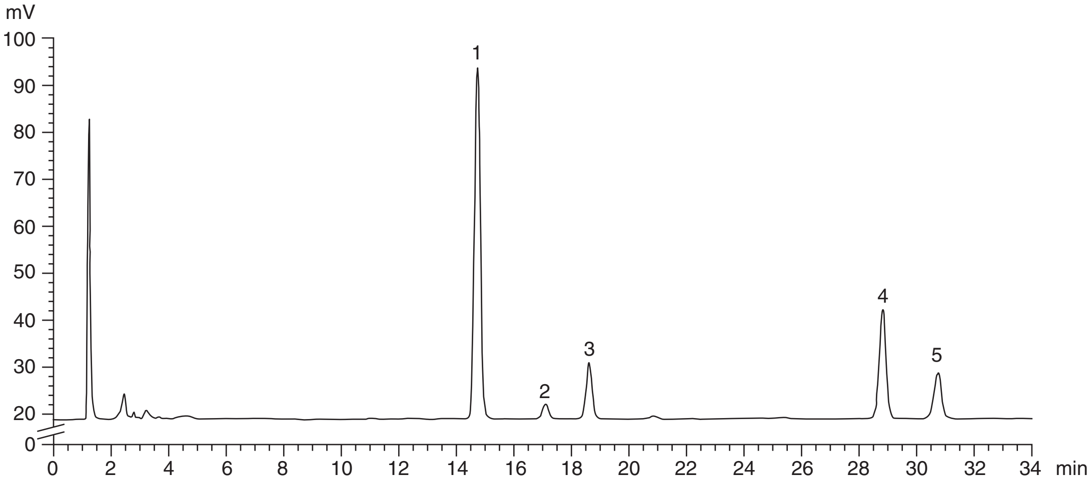


圖 5　銀杏葉提取液對照指紋圖譜

供試品色譜圖中應有以上的 5 個特徵峰（峰 1 為白果內酯；峰 2 為銀杏內酯 J；峰 3 為銀杏內酯 C；峰 4 為銀杏內酯 A；峰 5 為銀杏內酯 B），與對照品溶液相應色譜峰的保留時間均應一致（圖 5）。

5. 檢查

5.1 重金屬（*附錄 V*）：應符合有關規定。

5.2 農藥殘留（*附錄 VI*）：應符合有關規定。

5.3 **霉菌毒素－黃曲霉毒素**（*附錄VII*）：應符合有關規定。

5.4 **二氧化硫殘留**（*附錄 XV*）：應符合有關規定。

5.5 **雜質**（*附錄VIII*）：不多於2.0%。

5.6 **灰分**（*附錄IX*）

總灰分：不多於12.5%。
酸不溶性灰分：不多於2.0%。

5.7 **水分**（*附錄X*）：不多於12.0%。

6. 浸出物（*附錄XI*）

水溶性浸出物（冷浸法）：不少於20.0%。
醇溶性浸出物（熱浸法）：不少於24.0%。

7. 含量測定

照附錄IV（B）進行。

7.1 槲皮素、山柰素和異鼠李素的總含量測定

對照品溶液

槲皮素、山柰素和異鼠李素混合對照品儲備液 Std-Stock（槲皮素和山柰素各 100 mg/L，異鼠李素 40 mg/L）

精密稱取槲皮素對照品（圖 4）和山柰素對照品（圖 4）各 5.0 mg 和異鼠李素對照品 2.0 mg（圖 4），溶解於 50 mL 甲醇中。

槲皮素、山柰素和異鼠李素混合對照品溶液 Std-AS

精密吸取槲皮素、山柰素和異鼠李素混合對照品儲備液適量，以甲醇稀釋製成含槲皮素和山柰素各分別為 2.5、10、20、30、40 mg/L，異鼠李素為 1、4、8、12、16 mg/L 系列的混合對照品溶液。

供試品溶液

精密稱取本品粉末1.0 g，置 250-mL 圓底燒瓶中，加乙醇－水－鹽酸（50: 20: 8, v/v）的混合溶液80 mL，加熱回流1 小時，放冷至室溫，離

心5分鐘（約4000×g）。取上清液轉移於100-mL量瓶中。殘渣加20 mL甲醇，超聲（240 W）處理30分鐘，離心5分鐘（約4000×g）。取上清液轉移於同一量瓶中，加甲醇至刻度，用0.45-µm微孔濾膜（PTFE）濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長365 nm；4.6×250 mm十八烷基鍵合硅膠（5 µm）填充柱；流速約1.0 mL/min。流動相為0.2%磷酸-甲醇（47:53, v/v）的混合溶液；流程約30分鐘。

系統適用性要求

將槲皮素、山柰素和異鼠李素對照品溶液Std-AS（槲皮素和山柰素各10 mg/L，異鼠李素4 mg/L）20 µL，注入液相色譜儀，至少重複5次。系統適用性參數的要求如下：槲皮素、山柰素和異鼠李素的峰面積相對標準偏差均應不大於5.0%；槲皮素、山柰素和異鼠李素峰的保留時間相對標準偏差均應不大於2.0%；理論塔板數按槲皮素、山柰素和異鼠李素峰計算均應分別不低於6500、9000和8500。

供試品測試中槲皮素、山柰素和異鼠李素峰與鄰近峰之間的分離度均應不低於1.5。

標準曲綫

將槲皮素、山柰素和異鼠李素系列對照品溶液Std-AS各20 µL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以槲皮素、山柰素和異鼠李素的峰面積與相應濃度作圖，從相應5點的標準曲綫得斜率、截距與相關系數。

操作程序

將供試品溶液20 µL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與槲皮素、山柰素和異鼠李素對照品溶液Std-AS色譜圖中各成份峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中槲皮素、山柰素和異鼠李素峰。二色譜圖中槲皮素、山柰素和異鼠李素相應峰的保留時間相差均應不大於2.0%。測定峰面積，按附錄IV（B）公式計算供試品溶液中槲皮素、山柰素和異鼠李素的濃度（mg/L），並計算樣品中槲皮素、山柰素和異鼠李素的百分含量。

限度

按乾燥品計算，本品含槲皮素（$C_{15}H_{10}O_7$）、山柰素（$C_{15}H_{10}O_6$）和異鼠李素（$C_{16}H_{12}O_7$）的總量不少於 0.22%。

7.2 白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J的總含量測定

對照品溶液

白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J混合對照品儲備液Std-Stock（白果內酯900 mg/L、銀杏內酯A 500 mg/L、銀杏內酯B和銀杏內酯C各400 mg/L和銀杏內酯J 300 mg/L）

精密稱取白果內酯對照品4.5 mg、銀杏內酯A對照品2.5 mg、銀杏內酯B對照品2.0 mg、銀杏內酯C對照品2.0 mg和銀杏內酯J對照品1.5 mg，溶解於5 mL 50% 甲醇中。超聲（240 W）處理使其溶解。

白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J混合對照品溶液Std-AS

精密吸取白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J混合對照品儲備液適量，以50% 甲醇稀釋製成含白果內酯為234、360、540、720、900 mg/L；銀杏內酯A為130、200、300、400、500 mg/L；銀杏內酯B和銀杏內酯C各分別為104、160、240、320、400 mg/L和銀杏內酯J為78、120、180、240、300 mg/L系列的混合對照品溶液。

試劑

磷酸鹽緩衝液

取磷酸氫二鈉1.19 g和磷酸二氫鉀8.25 g，溶解於1000 mL水，用磷酸調pH值至5.8。

供試品溶液

取本品粉末2.5 g，置50-mL離心管中，加90% 甲醇40 mL，超聲（240 W）處理30分鐘，離心5分鐘（約4500 × *g*）。取上清液轉移於500-mL圓底燒瓶中，重覆提取2次，合併提取液，用旋轉蒸發器於約50℃減壓蒸乾。殘渣溶於10 mL磷酸鹽緩衝液，超聲（240 W）處理5分鐘，載入層析用硅藻土固相淨化柱（能載20 mL溶液），重覆洗

滌圓底燒瓶2次，每次用5 mL磷酸鹽緩衝液，載入淨化柱。15分鐘後用乙酸乙酯100 mL洗脫，收集洗脫液於200-mL圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器於約50℃減壓蒸乾。殘渣溶於5 mL甲醇，轉移於10-mL量瓶中，用5 mL水洗滌燒瓶並轉移於同一量瓶中，超聲（240 W）處理15分鐘，加50%甲醇至刻度，用0.45-µm微孔濾膜（PTFE）濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：蒸發光散射檢測器[漂移管溫度：102℃；霧化氣（N_2）流速: 2.8 L/min]；4.6×250 mm十八烷基鍵合硅膠（5 µm）填充柱；流速約1.0mL/min。色譜洗脫程序如下（表2）：

表2　色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	水 (%, v/v)	甲醇 (%, v/v)	洗脫
0 – 45	75→52	25→48	綫性梯度

系統適用性要求

將白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J混合對照品溶液Std-AS（白果內酯540 mg/L、銀杏內酯A 300 mg/L、銀杏內酯B、銀杏內酯C各240 mg/L和銀杏內酯J 180 mg/L）20 µL，注入液相色譜儀，至少重複5次。系統適用性參數的要求如下：白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J的峰面積相對標準偏差均應不大於5.0%；白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰的保留時間相對標準偏差均應不大於2.0%；理論塔板數按白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰計算均應分別不低於15000、35000、40000、20000和20000。

供試品測試中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰與鄰近峰之間的分離度均應不低於1.5。

標準曲綫

將白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J系列混合對照品溶液Std-AS各20 µL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J的峰面積與相應濃度的自然對數值作圖。從相應5點的標準曲綫得斜率、截距與相關系數。

操作程序

將供試品溶液 20 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J混合對照品溶液Std-AS色譜圖中各成分峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J峰。二色譜圖中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J相應峰的保留時間相差均應不大於2.0%。測定峰面積，按下列公式計算供試品溶液中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J的濃度（mg/L）：

$$\text{白果內酯 / 銀杏內酯A / 銀杏內酯B / 銀杏內酯C / 銀杏內酯J 的濃度（mg/L）} = e^{[\mathrm{Ln}\,(A)-I]/m}$$

式中 A = 供試品溶液中白果內酯/銀杏內酯A/銀杏內酯B/銀杏內酯C/銀杏內酯J的峰面積；

I = 白果內酯/銀杏內酯A/銀杏內酯B/銀杏內酯C/銀杏內酯J5點標準曲綫的截距；

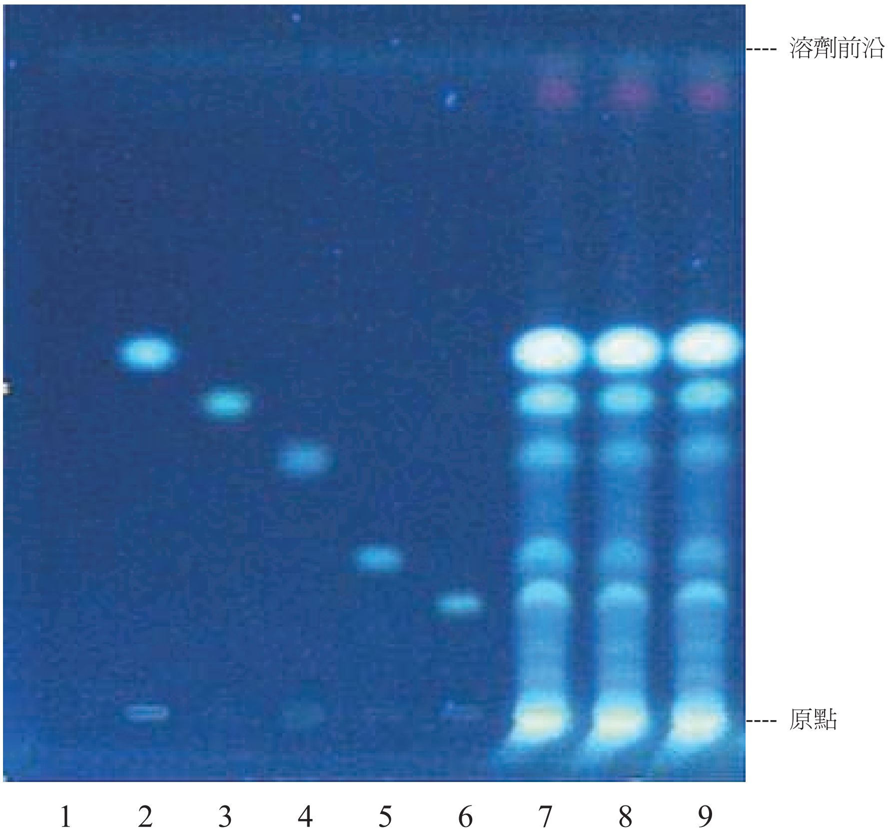
m = 白果內酯/銀杏內酯A/銀杏內酯B/銀杏內酯C/銀杏內酯J5點標準曲綫的斜率。

按附錄IV（B）公式計算樣品中白果內酯、銀杏內酯A、銀杏內酯B、銀杏內酯C和銀杏內酯J的百分含量。

限度

按乾燥品計算，本品含白果內酯（$C_{15}H_{18}O_8$）、銀杏內酯A（$C_{20}H_{24}O_9$）、銀杏內酯B（$C_{20}H_{24}O_{10}$）、銀杏內酯C（$C_{20}H_{24}O_{11}$）和銀杏內酯J（$C_{20}H_{24}O_{10}$）的總量不少於0.32%。

Folium Ginkgo (銀杏葉)



編號	樣品	結果
1	空白對照 (甲醇)	陰性
2	對照品 (白果內酯)	白果內酯 陽性
3	對照品 (銀杏內酯 A)	銀杏內酯 A 陽性
4	對照品 (銀杏內酯 B)	銀杏內酯 B 陽性
5	對照品 (銀杏內酯 J)	銀杏內酯 J 陽性
6	對照品 (銀杏內酯 C)	銀杏內酯 C 陽性
7	樣品 (銀杏葉)	白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯 J 陽性

8	加標樣品 (樣品加白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯 J)	白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯 J 陽性
9	平行樣品 (銀杏葉)	白果內酯、銀杏內酯 A、銀杏內酯 B、銀杏內酯 C 和銀杏內酯 J 陽性

圖 1　銀杏葉提取液的薄層色譜圖 (顯色後在紫外光 366 nm 下檢視)