附件6

银杏叶提取物、银杏叶片及银杏叶胶囊中

槐角苷检查项补充检验方法

**【检查】槐角苷** 照高效液相色谱法（《中华人民共和国药典》2010年版一部附录 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（Agilent 5 TC-C18(2)，柱长为250mm，内径为4.6mm，粒径为5μm）；以甲醇为流动相A，乙腈为流动相B，0.4%磷酸溶液为流动相C；检测波长为260nm；柱温为40℃。理论板数按槐角苷峰计算应不低于40000。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 时间（分钟） | 流动相A（%） | 流动相B（%） | 流动相C（%） |
| 0~20 | 15→25 | 8 | 77→67 |
| 20~40 | 25→50 | 8 | 67→42 |
| 40~41 | 50→15 | 8 | 42→77 |

**专属性试验** 分别取银杏叶对照提取物溶液，槐角对照药材溶液及槐角苷对照品溶液，进样分析。银杏叶对照提取物溶液在与槐角苷对照品保留时间相同位置不得出现干扰峰，若有干扰，峰面积不得超过槐角苷对照品峰面积的5%；槐角对照药材溶液中，槐角苷与其他色谱峰分离度应符合要求。

**对照溶液的制备** 取槐角苷对照品适量，精密称定，加80%甲醇制成每1ml含20.0μg的溶液，作为对照品溶液；另取银杏叶对照提取物40mg，加入80%甲醇溶液20ml超声处理10分钟，滤过，取续滤液，即得银杏叶对照提取物溶液；再取槐角对照药材40mg，同法制成槐角对照药材溶液。

**供试品溶液的制备** 取银杏叶提取物约40.0mg；或取银杏叶片10片，糖衣片除去包衣，精密称定，研细，取约相当于总黄酮醇苷9.6mg的粉末；或取银杏叶胶囊装量差异项下的内容物，混匀，研细，取约相当于总黄酮醇苷9.6mg的粉末，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入80%甲醇溶液20ml，密塞，称定重量，超声处理（功率250W，频率33kHz）20分钟，取出，放冷，再称定重量，用80%甲醇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，即得。

**结果判断：**供试品色谱中，在与槐角苷对照品溶液色谱峰保留时间相应的位置不得出现相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰，采用二极管阵列检测器比较相应色谱峰在210~400nm波长范围内紫外-可见吸收光谱，吸收光谱应不相同（槐角苷在259 nm显示最大吸收）；若吸收光谱相同，且该色谱峰的峰面积值大于对照品溶液（20.0μg/ml）的峰面积值，则视为阳性检出。