

基于 UPLC-TQ-MS 考察不同树龄银杏叶双黄酮含量变化规律

郁丹红¹, 姜玮², 姚鑫³, 薛平⁴, 毛晨梅^{1*}

(1. 苏州大学附属儿童医院, 江苏苏州 215000; 2. 泰州市食品药品检验所, 江苏泰州 225300;
3. 苏州大学附属第一医院, 江苏苏州 215000; 4. 常州市食品药品监督检验中心, 江苏常州 213000)

[摘要] 目的:建立超高效液相色谱串联三重四级杆质谱法同时测定银杏叶中5个双黄酮成分的含量。方法:采用UPLC BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),流动相0.10%甲酸溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~3 min, 60% A; 3~4 min, 60%~50% A; 4~6 min, 50% A; 6~8 min, 50%~0A),流速0.3 mL·min⁻¹,柱温35℃,进样量1 μL。结果:穗花杉双黄酮、白果黄素、银杏素、异银杏素、金松双黄酮分别在0.02~13.20 mg·L⁻¹(*r*=0.996 3), 0.05~23.60 mg·L⁻¹(*r*=0.995 5), 0.09~18.60 mg·L⁻¹(*r*=0.992 7), 0.10~21.00 mg·L⁻¹(*r*=0.998 8)和0.06~16.00 mg·L⁻¹(*r*=0.996 7)线性关系良好。5个双黄酮加样回收率分别为101.50%, 98.78%, 97.59%, 97.24%, 101.09%, RSD分别为2.7%, 2.7%, 3.1%, 2.8%, 1.3%。银杏叶中双黄酮含量差异性较大,穗花杉双黄酮、白果黄素、银杏素、异银杏素、金松双黄酮的质量分数分别为121.30~434.74, 268.39~847.14, 251.80~1 297.10, 195.87~691.10, 477.48~3 003.90 μg·g⁻¹,总双黄酮质量分数1 474.45~5 635.40 μg·g⁻¹,但显示具有一定的规律性,即低树龄银杏叶含总双黄酮较高,随着树龄的增长,总双黄酮含量逐渐降低。结论:该方法专属性强,为银杏叶双黄酮类化合物的质量控制提供了一定的参考。

[关键词] 超高效液相色谱串联三重四级杆质谱法; 银杏叶; 双黄酮; 树龄

[中图分类号] R284.1; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)18-0145-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191414

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190402.1659.011.html>

[网络出版时间] 2019-04-04 18:15

Determination of Biflavones in *Ginkgo biloba* Leaves of Different Ages by UPLC-TQ-MS

YU Dan-hong¹, JIANG Wei², YAO Xin³, XUE Ping⁴, MAO Chen-mei^{1*}

(1. Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215000, China;

2. Taizhou Institute for Food and Drug Control, Taizhou 225300, China;

3. The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215000, China;

4. Changzhou Institute for Food and Drug Control, Changzhou 213000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass for the determination of five biflavones. **Method:** Chromatographic separation was carried out on a ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) with gradient elution of acetonitrile and 0.10% formic acid at a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹, and the column temperature was set at 35℃. **Result:** Amentoflavone, bilobetin, ginkgetin, isoginkgetin, sciadopitysin showed a good linearity within the ranges of 0.02-13.20 mg·L⁻¹ (*r*=0.996 3), 0.05-23.60 mg·L⁻¹ (*r*=0.995 5), 0.09-18.60 mg·L⁻¹ (*r*=0.992 7), 0.10-21.00 mg·L⁻¹ (*r*=0.998 8), 0.06-16.00 mg·L⁻¹ (*r*=0.996 7), with average recoveries of 101.50%, 98.78%, 97.59%, 97.24%, 101.09%, and RSDs of 2.7%, 2.7%, 3.1%, 2.8%, 1.3%. The contents of amentoflavone, bilobetin, ginkgetin, isoginkgetin, sciadopitysin ranged between 121.30-434.74, 268.39-

[收稿日期] 20181030(022)

[基金项目] 江苏省食品药品监督管理局科研项目(20170218, 20170226); 苏州市科技发展计划项目(SYSD2017149)

[第一作者] 郁丹红, 硕士, 主管中药师, 从事中药化学与分析研究, E-mail: yaobest@163.com

[通信作者] *毛晨梅, 主任中药师, 从事中药化学与分析研究, E-mail: chenmeimao@163.com

847.14, 251.80-1 297.10, 195.87-691.10, 477.48-3 003.90 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. The total biflavones ranged between 1 474.45-5 635.40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. It shows a certain regularity that the low-vinegar leaves contain higher total flavonoids, and the total flavonoid content gradually decreases with the increase of tree age. **Conclusion:** The method was simple, and can be used for qualitative and quantitative analysis of biflavones.

[Key words] UPLC-TQ-MS; *Ginkgo biloba* leaves; biflavones; tree age

银杏叶为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* 的干燥叶,药理效应独特,现已经广泛用于一线临床和日常生活,其产品包括药品、食品和功能保健品,已成为国内和国外研究的热点,并逐渐成为植物药制剂和功能保健食品的前列品种^[1-3]。大量研究表明其提取物对老年性痴呆以及心血管疾病具有特殊的疗效。银杏叶物质基础的研究主要集中在 3 大类,分别为黄酮类、萜内酯以及毒性成分银杏酸类成分^[4-9]。此外,银杏叶中还含有裸子植物的特征性成分,双黄酮类化合物,主要为穗花杉双黄酮、白果黄素、银杏素、异银杏素、金松双黄酮,研究发现银杏绿叶所含双黄酮较低,但其落叶,含有大量的双黄酮类成分。

银杏叶所含化学成分复杂,每一类化合物都有其特定的分析方法。蒸发光散射检测器是测定萜内酯的常见方法^[10-12];针对黄酮类成分的分析,主要分为两大类,分别为直接测定法和酸水解后测定法,常见的方法是酸水解后,测定 3 个黄酮苷元(槲皮素、异鼠李素以及山柰酚),然后换算成总黄酮苷含量^[13-16]。本研究团队曾经报道 UPLC-TQ-MS 同时测定银杏叶及其提取物中多种特征性成分(黄酮苷、萜内酯、双黄酮、银杏酸以及原花青素类成分)^[16-18]。但是尚未见到学者关于银杏叶双黄酮类化合物分析方法的报道,其他植物双黄酮类分析方法的报道亦很少,主要报道是一个双黄酮(穗花杉双黄酮),本研究团队虽然报道过银杏叶中 24 种特征性成分分析,但该分析方法只包含 4 种双黄酮化合物,且分析时间较长,不适合运用于单独双黄酮类化合物的定性与定量。本文建立 UPLC-TQ-MS 的

分析方法,对不同树龄银杏叶中双黄酮成分进行定量分析,以期银杏叶双黄酮类化合物的质量控制提供一定的参考信息。

1 材料

ACQUITY 型 UPLC 系统(包括四元泵溶剂系统,在线脱气机和自动进样器,Xevo TQ 检测器,美国 Waters 公司);BT125 型 1/10 万电子天平(德国赛多利斯);KQ-250E 型超声波清洗器(昆山和创仪器有限公司);Anke GL-16G II 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

穗花杉双黄酮(1),白果黄素(2),银杏素(3),异银杏素(4),金松双黄酮(5)为本实验室从银杏落叶中分离得到,纯度经 HPLC 检测纯度均 > 98%。银杏叶采样时间为 2017 年 10 月,地点江苏泰州,树龄分别为 1, 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 300 年(银杏树龄由银杏栽培所在地的管理人员根据记录资料提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流动相 0.10% 甲酸溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 3 min, 60% A; 3 ~ 4 min, 60% ~ 50% A; 4 ~ 6 min, 50% A; 6 ~ 8 min, 50% ~ 0A),流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,进样量 1 μL 。

2.2 质谱条件 多反应监测(MRM)扫描方式;离子源和脱溶剂气温度分别为 150, 550 $^{\circ}\text{C}$,毛细管电压 3.0 kV;干燥气、锥孔气以及碰撞气流量分别为 1 000, 50 L·h⁻¹和 0.15 mL·min⁻¹,5 个双黄酮质谱信息见表 1,MRM 色谱图见图 1。

表 1 5 种双黄酮的质谱检测参数

Table 1 MS parameters of 5 investigated compounds

成分	相对分子质量	MRM 监测离子	锥孔电压/V	碰撞能量/eV	保留时间/min	离子模式
1	538	537.28 ~ 375.07	48	40	1.45	ESI ⁻
2	552	551.28 ~ 519.19	52	30	2.29	ESI ⁻
3	566	567.28 ~ 120.94	70	44	4.89	ESI ⁺
4	566	567.28 ~ 134.94	70	44	5.15	ESI ⁺
5	580	581.35 ~ 134.93	68	44	7.25	ESI ⁺

注:采样时间均为 0.049 s。

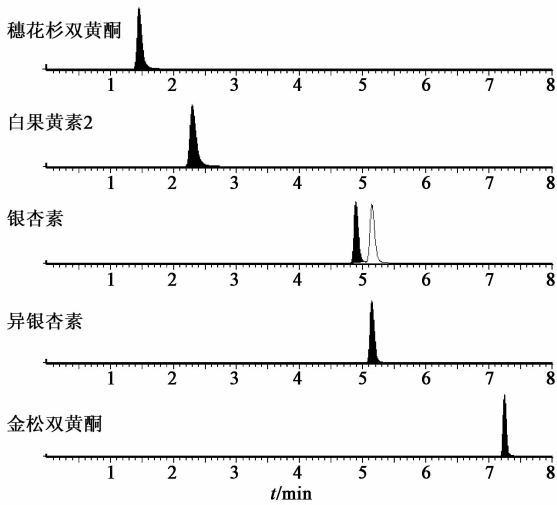


图 1 银杏叶中 5 个双黄酮 MRM

Fig. 1 MRM chromatograms of five compounds in *Ginkgo biloba* leaves

2.3 对照品溶液制备 精密称取 5 种双黄酮,制成穗花杉双黄酮、白果黄素、银杏素、异银杏素、金松双黄酮质量浓度分别为 13.20, 23.60, 18.60, 21.00, 16.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品贮备液。取不同体积

贮备液加适量 40% 乙腈稀释,制成系列混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备 精密称定本品粉末 0.2 g,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 70% 甲醇 50 mL,室温超声提取 60 min,静置,摇匀,1 万 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液待测。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系、最低检测限和最低定量限试验 按 2.1 与 2.2 项下的色谱与质谱条件依法测定,以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,线性回归分析,计算相关系数;LOD 和 LOQ 分别在信号对噪音比值(S/N)为 3 和 10 时测定,结果见表 2。穗花杉双黄酮、白果黄素、银杏素、异银杏素、金松双黄酮分别在 0.02 ~ 13.20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9963$), 0.05 ~ 23.60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9955$), 0.09 ~ 18.60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9927$), 0.10 ~ 21.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9988$) 和 0.06 ~ 16.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9967$) 线性关系良好,成分 1 ~ 5 的检测限分别为 0.70, 0.41, 1.35, 0.38, 0.40 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,定量限分别为 2.28, 1.34, 4.21, 1.27, 1.26 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 5 个双黄酮成分的线性回归方程及 LOD 和 LOQ 测定

Table 2 Linear regression data and validation of developed method for 5 investigated compounds in *Ginkgo biloba* leaves

成分	线性方程	r	线性范围/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	检测限/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
1	$Y = 2256X + 5672$	0.9963	0.02 ~ 13.20	0.70	2.28
2	$Y = 11347X + 12673$	0.9955	0.05 ~ 23.60	0.41	1.34
3	$Y = 6735X + 5367$	0.9927	0.09 ~ 18.60	1.35	4.21
4	$Y = 11572X + 7852$	0.9988	0.10 ~ 21.00	0.38	1.27
5	$Y = 125723X + 11568$	0.9967	0.06 ~ 16.00	0.40	1.25

2.5.2 精密度试验 取 2.3 项下的对照品溶液连续进样 6 次,以峰面积计算,5 个成分峰面积积分值的 RSD ($n = 6$) 分别为 2.1%, 1.8%, 2.6%, 1.7%, 1.9%。说明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 按 2.4 项下的方法制备 6 份银杏叶(树龄为 1 年生)的供试品溶液。按上述方法分析,结果银杏叶中 5 个成分质量分数的平均值分别为 0.025%, 0.075%, 0.070%, 0.044%, 0.086%; RSD 分别为 1.5%, 1.8%, 1.2%, 1.9%, 2.2%, 说明该方法重复性好。

2.5.4 稳定性试验 取重复性试验中的一份供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样测定。结果 5 个成分峰面积的 RSD 分别为 1.6%, 2.5%, 2.1%, 1.3%, 1.7%。表明供试品溶液室温放置

24 h 稳定。

2.5.5 加样回收率试验 取已知含量的银杏叶(树龄为 1 年生)粉末 0.1 g 共 6 份,分别准确加入与样品中 5 个成分质量相当的对照品溶液,按上述方法测定,计算加样回收率。穗花杉双黄酮、白果黄素、银杏素、异银杏素、金松双黄酮的加样回收率分别为 101.50%, 98.78%, 97.59%, 97.24%, 101.09%, RSD 分别为 2.7%, 2.7%, 3.1%, 2.8%, 1.3%, 结果见表 3。

2.6 样品测定 按上述方法,利用标曲,计算穗花杉双黄酮(1),白果黄素(2),银杏素(3),异银杏素(4),金松双黄酮(5)的含量,结果见表 4。穗花杉双黄酮的测定结果在 121.30 ~ 434.74 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 10 年生银杏叶含量最低,3 年生银杏叶含量最高;白

表 3 银杏叶中 5 个双黄酮成分的回收率试验

Table 3 Recoveries of five components in *Ginkgo biloba* leaves

成分	称样量 /g	样品中量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.102 1	25.55	25.00	50.65	100.39	101.50	2.7
	0.098 5	24.65	25.00	50.69	104.16		
	0.097 9	24.50	25.00	50.55	104.19		
	0.102 1	25.55	25.00	51.16	102.43		
	0.102 7	25.70	25.00	50.89	100.75		
	0.103 5	25.90	25.00	50.17	97.08		
2	0.102 1	76.93	75.13	148.70	95.53	98.78	2.7
	0.098 5	74.22	75.13	149.87	100.70		
	0.097 9	73.77	75.13	150.46	102.09		
	0.102 1	76.93	75.13	148.87	95.76		
	0.102 7	77.38	75.13	151.21	98.28		
	0.103 5	77.99	75.13	153.36	100.33		
3	0.102 1	71.88	70.03	141.80	99.84	97.59	3.1
	0.098 5	69.34	70.03	140.56	101.70		
	0.097 9	68.92	70.03	138.40	99.22		
	0.102 1	71.88	70.03	137.92	94.31		
	0.102 7	72.30	70.03	139.82	96.42		
	0.103 5	72.86	70.03	138.73	94.05		
4	0.102 1	45.05	44.11	87.04	95.20	97.24	2.8
	0.098 5	43.46	44.11	88.35	101.78		
	0.097 9	43.19	44.11	86.99	99.29		
	0.102 1	45.05	44.11	87.81	96.96		
	0.102 7	45.31	44.11	87.64	95.96		
	0.103 5	45.66	44.11	87.24	94.25		
5	0.102 1	87.48	86.00	173.97	100.56	101.09	1.3
	0.098 5	84.40	86.00	172.26	102.16		
	0.097 9	83.88	86.00	171.84	102.27		
	0.102 1	87.48	86.00	175.12	101.91		
	0.102 7	88.00	86.00	174.52	100.61		
	0.103 5	88.68	86.00	173.87	99.05		

果黄素的测定结果在 268.39 ~ 847.14 μg·g⁻¹, 20 年生银杏叶含量最低, 6 年生银杏叶含量最高; 银杏素的测定结果在 251.8 ~ 1 297.10 μg·g⁻¹, 20 年生银杏叶含量最低, 10 年生银杏叶含量最高; 异银杏素的测定结果在 195.87 ~ 691.10 μg·g⁻¹, 25 年生银杏叶含量最低, 300 年生银杏叶含量最高; 金松双黄酮的测定结果在 477.48 ~ 3 003.90 μg·g⁻¹, 25 年生银杏叶含量最低, 10 年生银杏叶含量最高。表明不

同树龄对银杏叶中双黄酮含量影响较大。由结果可以发现, 不同树龄(1, 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 300 年)银杏叶中所含的双黄酮含量差异性较大, 总双黄酮含量为 1 474.45 ~ 5 635.40 μg·g⁻¹, 但显示具有一定的规律性, 即低树龄银杏叶含总双黄酮较高, 随着树龄的增长, 双黄酮含量有下降的趋势。

表 4 不同树龄银杏叶中 5 个双黄酮成分的含量测定

Table 4 Determination results of 5 terpene lactones in *Ginkgo biloba* leaves of different ages

树龄 /年	穗花杉 双黄酮	白果黄素	银杏素	异银杏素	金松 双黄酮	总双黄酮 μg·g ⁻¹
1	250.24	753.48	703.98	441.19	856.84	3 005.74
3	434.74	831.09	870.56	378.84	607.55	3 122.77
6	316.03	847.14	1 028.13	301.05	653.81	3 146.16
10	121.30	535.00	1 297.10	678.10	3 003.90	5 635.40
15	257.17	489.06	532.74	514.78	826.32	2 620.08
20	139.88	268.39	251.80	283.14	531.24	1 474.45
25	158.86	457.25	581.97	195.87	477.48	1 871.42
30	179.32	293.01	341.64	392.51	553.44	1 759.92
50	127.34	698.89	267.15	395.09	759.49	2 247.95
100	204.92	369.96	376.18	425.51	624.95	2 001.52
300	266.11	339.55	373.29	691.10	771.32	2 441.36

3 讨论

采用单变量法, 考察了不同提取方法、不同提取溶剂、不同提取剂量和时间对双黄酮测定的影响, 同时比较分析优化不同流动相系统对其影响, 最终优化条件为 70% 甲醇 50 mL 超声提取 10 min, 流动相 0.10% 甲酸溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 3 min, 60% A; 3 ~ 4 min, 60% ~ 50% A; 4 ~ 6 min, 50% A; 6 ~ 8 min, 50% 0A)。

不同树龄(1, 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 300 年)银杏叶中所含的双黄酮含量差异性较大, 总双黄酮质量分数 1 474.45 ~ 5 635.40 μg·g⁻¹, 但显示具有一定的规律性, 即低树龄银杏叶含总双黄酮较高, 随着树龄的增长, 双黄酮有下降的趋势。但总双黄酮在 25 年到 300 年之间规律性不大, 可能是因为随着树龄的不断增长, 叶绿素的含量逐渐降低, 导致其在捕捉光能时效率降低, 进而其光合作用降低, 出现生理代谢紊乱等诸多问题而导致

银杏资源在我国分布广泛且相当丰富, 其活性物质广泛用于保健食品的生产, 也是医药原料的重要来源之一。学者对银杏叶中有效成分黄酮、内酯

类成分以及毒性银杏酸类化合物的研究相对全面,发现不同树龄对黄酮、内酯类成分以及毒性银杏酸类化合物的含量影响巨大,低树龄银杏叶所含总黄酮和总内酯较高树龄高出很多,且不同产地其含量差异亦巨大,但其分布具有一定的地域性^[17-19]。学者关于双黄酮类化合物的研究鲜有报道,本文比较分析不同树龄对双黄酮含量的影响,探索其变化规律,发现 10 年低树龄银杏叶中双黄酮类成分质量分数较高,最高的可达 0.563%,总双黄酮类成分不低于 2015 年版《中国药典》规定的银杏叶中总内酯含量,提示其双黄酮类成分还是具有一定的开发前景。

[参考文献]

[1] LUO Y. Alzheimers disease, the nematode caenorhabditis elegans, and *Ginkgo biloba* leaf extract [J]. Life Sci, 2006, 78(18): 2066-2072.

[2] Hogan D B. Progress update: pharmacological treatment of alzheimer's disease [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2007, 3(5): 569-578.

[3] SHI C, LIU J, WU F, et al. *Ginkgo biloba* extract in Alzheimer's disease: from action mechanisms to medical practice [J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(1): 107-123.

[4] LIN L Z, CHEN P, Ozcan M, et al. Chromatographic profiles and identification of new phenolic components of *Ginkgo biloba* leaves and selected products [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(15): 6671-6679.

[5] Hasler A, Sticher O, Meier B. High-performance liquid chromatographic determination of five widespread flavonoid aglycones [J]. J Chromatogr A, 1990, 508(1): 236-240.

[6] 姚鑫, 薛平, 郁丹红, 等. UPLC-MS/MS 测定银杏叶提取物中 5 种微量银杏酸 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 174-179.

[7] 耿婷, 申文雯, 王佳佳, 等. 银杏叶中内酯类成分的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1384-1391.

[8] 吕金丽, 杨彪, 李孟璇, 等. 高效液相法同时测定银杏叶中 11 种成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(5): 931-935.

[9] 巴晓雨, 闫朝雷, 苗秋艳, 等. 《中国药典》银杏叶提取物质量标准与《美国药典》、《欧洲药典》的对比分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 180-185.

[10] Chiu H L, LIN H, YANG T. Determination of ginkgolide A, B, and bilobalide in *Ginkgo biloba* L. extracts by microdialysis-HPLC [J]. Anal Bioanal Chem, 2004, 379

(3): 445-448.

[11] Dubber M J, Kanfer I. Determination of terpene trilactones in *Ginkgo biloba* solid oral dosage forms using HPLC with evaporative light scattering detection [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2006, 41(1): 135-140.

[12] Pushpinder K, Abha C, Bikram S, et al. Optimization of extraction technique and validation of developed RP-HPLC-ELSD method for determination of terpene trilactones in *Ginkgo biloba* leaves [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2009, 50(5): 1060-1064.

[13] XIE J C, ZHU L L, LUO H P, et al. Direct extraction of specific pharmacophoric flavonoids from ginkgo leaves using a molecularly imprinted polymer for quercetin [J]. J Chromatogr A, 2002, 934(1/2): 1-11.

[14] Mary-Jean D, Isadore K, Mshicileli N, et al. The simultaneous determination of selected flavonol glycosides and aglycones in *Ginkgo biloba* oral dosage forms by high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2005, 37(4): 723-731.

[15] Pamita B, Neeraj K, Ajaip G, et al. A rapid RP-HPTLC densitometry method for simultaneous determination of major flavonoids in important medicinal plants [J]. J Sep Sci, 2007, 30(13): 2092-2096.

[16] YAO X, ZHOU G S, TANG Y P, et al. Simultaneous quantification of flavonol glycosides, terpene lactones, biflavones, proanthocyanidins, and ginkgolic acids in *Ginkgo biloba* leaves from fruit cultivars by ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. Biomed Res Int, 2013, doi:10.1155/2013/582591.

[17] YAO X, SHANG E X, ZHOU G S, et al. Comparative characterization of total flavonol glycosides and terpene lactones at different ages, from different cultivation sources and genders of *Ginkgo biloba* leaves [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(8): 10305-10315.

[18] 胡蓉蓉, 姚鑫. UPLC-MS/MS 测定银杏叶提取物中 10 个黄酮类成分的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 90-95.

[19] WANG Y, LIU Y, WU Q, et al. Rapid and sensitive determination of major active ingredients and toxic components in *Ginkgo biloba* leaves extract (EGb 761) by a validated UPLC-MS-MS method [J]. J Chromatogr Sci, 2017, 55(4): 459-464.

[责任编辑 顾雪竹]