

• 天然药物 •

银杏叶中萜内酯的研究进展

吴 坚 汪明亮 (武汉化工学院制药系 武汉 430073)

摘要 本文比较了银杏萜内酯不同提取方法和测定方法,总结了银杏萜内酯的主要药理作用,综述了银杏叶制剂的研究与开发现状。

关键词 银杏内酯;白果内酯;提取方法;测定方法;药理作用

Study progressing on the ginkgolides in the leaves of *Ginkgo biloba*

Wu Jian Wang Mingliang (Wuhan institute of chemical technology pharmacological department, Wuhan 430073)

ABSTRACT This paper compared different extracting and determine methods of ginkgolides, summarized brief pharmacological action and summed up the study and development of the preparation of *Ginkgo biloba* L.

KEYWORD ginkgolides, ginkgolide, extracting methods, determine methods, pharmacological action

银杏树为银杏科银杏属植物(*Ginkgo biloba* L.),本科仅存一属一种,为现存古代子遗植物之一,有裸子植物“活化石”之称。银杏已有600多年的药用历史^[1],但真正对其化学成分和药理研究始于本世纪60年代,到80年代才发现银杏叶中的银杏内酯(ginkgolide)为强血小板活化因子(PAF)受体拮抗剂^[2],特别是近十年来对白果内酯(bilobalide)药理作用的深入研究,很可能为治疗气喘、肺过敏反应提供一类新型药物。

1 银杏叶中银杏萜内酯的含量

银杏萜内酯包括银杏内酯(ginkgolide,属二萜化合物)A, B, C, J, M(以下简作G- A, G- B, G- C, G- J, G- M)和白果内酯(bilobalide,属倍半萜化合物,以下简作BB),而G- M仅存在于

银杏的根皮中,因此银杏叶中的有效活性内酯成分主要是指G- A, G- B, G- C, G- J和BB。银杏叶中银杏萜内酯有随季节变化而发生变化的倾向,生长时期、生长地域、树龄、树的性别、叶的颜色、保存方法等因素都有可能对总内酯含量造成影响,研究发现:生长时期、生长地域对内酯含量的影响最显著,甚至能有成倍差异;而树龄、树的性别则影响不大。研究结果还发现每年银杏在生长末期9月底10月初采摘的绿叶中含量较高,黄叶较低。采摘后及时干燥避光保存,一年内有效成分含量变化不大。

2 银杏叶中银杏萜内酯的提取方法

由于银杏叶中的活性成分包括黄酮和内酯,因此有效成分是一起从银杏叶中提取出来的。目前较常用的提取方法大致有3种,如表1:

表1 提取方法优缺点比较

提取方法	优点	缺点
有机溶剂萃取法 ^[3]	制备设备简单,产率高约12%~14% ^[3] ,多用于提取	杂质含量高,质量低内酯含量约为0.6%~1.0% ^[3]
树脂吸附法 ^[4]	质量优,含量高,内酯6%左右 ^[3] ,黄酮20%~26% ^[3] ,多用于精制	产率低,约为1.0%~3.0% ^[3]
超临界流体提取法 ^[3]	含量、产率均较高,黄酮含量可达35%以上,产率达4.1% ^[3] ,且无残留溶剂,活性成分和热不稳定成分不易被分解破坏而保持天然特征等	技术、设备、操作条件较高,不易推广

鉴于各种方法的优缺点, 现在普遍采用的是有机溶剂萃取法和树脂吸附法的结合法。先用乙醇—水溶液反复提取多次, 再用树脂吸附

进一步精制纯化。李新岗等^[5]研究表明能够制备得到含黄酮醇苷 27.4%, 银杏萜内酯 10.6% 的提取物, 产率 2.48%, 其工艺流程如图 1:

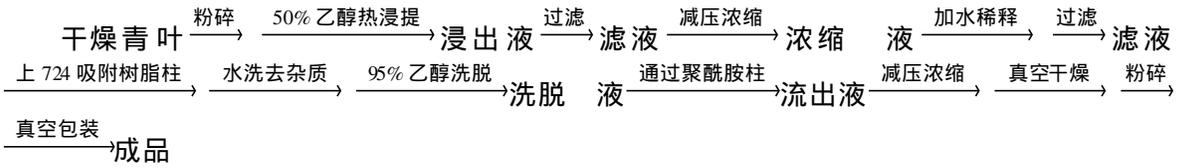


图 1 一种有效提取方法工艺流程

该方法操作简单, 能耗低, 投资少, 卫生安全。另有报道^[3]有人利用超临界 CO₂ 技术提取银杏萜内酯, 能够成功分离 G- A 和 G- B, G- C 和 G- J。完成内酯的单体分离和混和内酯的精制纯化, 产率为 4.1%, 其中黄酮占 35% 以上, 经过中试获得成功, 回收率为 87%。此法具有提取率高, 无溶剂残留毒性, 天然植物中活性成分和热不稳定成分不易分解破坏而保持其

天然特征等优点。

3 银杏叶中银杏萜内酯的测定方法

由于银杏萜内酯在银杏叶中含量很低, 比黄酮要低一个数量级(低于 0.1% w/w), 因此针对黄酮的测定方法就不一定适合内酯测定, 现就各种方法作一对比列入表 2(主要针对萜内酯的测定):

表 2 测定方法优缺点比较

测定方法	优点	缺点
GC- MS 法 ^[6]	线性关系及重现性均较好, 分析检测限达 0.1 μmol/l ^[7]	灵敏度低 ^[6]
TLC 法 ^[6]	简单易行	检测灵敏度低, 最低检出量 30 μg, 改进后可达 4 μg ^[6]
热射流 TSP 结合 (LC- MS) 联用 ^[9]	线性关系及重现性均较好 ^[9]	灵敏度低, 一般作半定量 ^[9]
HPLC 法 ^[10]	目前广泛采用的快速准确测定方法 ^[11]	杂质干扰大, 30 μg 高检出度, 对照品不统一
HPLC- RI 检测 ^[12]	效果较好, 回收率, 重现性好	缺少操作和结果数据, 后人无法重复
HPLC- ELSD 检测 ^[13]	灵敏度, 稳定性, 重现性均较好, 不受环境干扰 ^[13]	缺少操作和结果数据, 后人无法重复
RP- HPLC- UV 检测 ^[21]	易行, 高稳定性和灵敏度	缺少标准品, 浓度低时, 紫外吸收差
RP- HPLC 法 ^[14]	检测可靠性强, 最低检出度 100 ng ^[14]	净化步骤太繁琐, 需借助柱或固相提取且取样大
NMR 光谱法 ^[15]	无需进行混和物色谱分离, 不需参比物, 0.1 mg 样品 30 min 即可 ^[11]	设备昂贵
毛细管电泳法 (CE)- ELSD 检测	可分析 G- A, G- B 和 BB, 快速, 分离度好 ^[6]	不能分离 G- C 和 G- J
超临界流体色谱法 (SFC)	分离效果好, 准确性高, 检测限对 G- A, G- B, G- J 和 BB 是 20 ng, 对 G- C 是 40 ng	技术, 设备, 操作条件要求高
生测法 ^[16]	对 G- A, G- B, G- C, G- J 具有专属性 ^[16]	技术要求高

4 银杏萜内酯的药理作用

关于银杏萜内酯的药理作用近年来研究十分深入, 不断有药理作用的报道, 现将银杏萜内酯的主要药理作用列表如表 3。

5 银杏叶提取物的应用及其制剂开发

银杏叶提取物主要是指银杏叶中的活性有效成分, 即总黄酮和总内酯, 因而其制剂开发以银杏叶提取物为原料并同时含有总黄酮和总内酯。银杏叶提取物有众多药理作用和保健作用, 目前在欧洲, 银杏叶提取物主要用于医疗方

面,德国 Schwabe 药厂生产的“强力梯波宁”,60 年代很畅销;而美国和日本多用其作化妆品和

食品,如化妆品有洗发香波、护肤霜等,食品有酒、巧克力、口香糖和饮料等。

表 3 药理作用特点

药理作用	作用特点
对心血管系统作用 ^[17]	阻止离体鼠心脏局部缺血引起的心率不齐,能减少冠脉堵塞范围,抑制心室标准化作用,减少梗塞程度,对心脏具有保护作用
抗血小板聚集因子(PAF)	G- B, G- C 对血小板聚集因子(PAF)有拮抗作用 ^[9]
清除自由基作用 ^[9]	G- B 对急性胰腺炎大鼠有一定治疗作用且与其抑制钙超载、清除自由基有关 ^[9]
抗缺氧作用 ^[9]	银杏总内酯具有形成 ATP 能力,可减少细胞对葡萄糖的需要 ^[9]
抗菌消炎作用 ^[9]	G- B 对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌及绿脓杆菌有抑制作用
抗病毒,抗癌作用 ^[18]	G- A, G- B, G- C 或单用 G- B 可以应用于转移癌的治疗
抗过敏作用 ^[1]	G- B 对支气管炎有一定疗效,由银杏总内酯产生,抑制多种过敏反应
抗休克作用 ^[1]	G- B 对被动过敏休克有预防作用
对中枢神经系统保护作用 ^[1]	对纹状体和边缘系统 DA 代谢具有一定副作用
对缺血损伤的保护作用 ^[16]	G- B 和 BB 对培养的鼠海马状突出神经细胞有保护作用
抗器官移植中的排斥作用 ^[1]	G- B 可延长心脏异体移植的存活寿命

国外银杏叶提取物(EGb)剂型较丰富,有片剂、滴剂、薄膜片剂、胶囊、注射剂、外用剂、酊剂、液体喷雾剂、洗剂、软膏、霜剂、气雾剂和口服液等^[19]。1995 至 1997 年美国 10 种植物提取物市场份额排名中银杏从 1995 年的第 5 名上升至 1997 年的第 1 名,到 1998 年 7 月 12 日止,52 周统计结果表明银杏居第 1 名,销售额达 1.38 亿美元,年增长率达 140%。而国内主要是片剂,虽然近两、三年开发的口服液也有一定的国内市场,但国内多数厂家还是生产中间体银杏浸膏销往日本、韩国、澳大利亚、新加坡、美国和欧洲等地。

目前国际上公认的质控标准是 Swache 公司 1971 年的专利 EG6761 的标准,即总黄酮含量 $\geq 24\%$,总内酯含量 $\geq 6\%$ (其中银杏内酯(2.5~4.5)%,白果内酯(2.0~4.0)%),近年来德国政府还限定了银杏干浸膏中银杏酸水平,即银杏酸水平在 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下。另有报道烷基酚要低于 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。丁青龙等^[20]曾对国内不同厂家的制剂进行质量测定,黄酮含量基本合格,但内酯含量不是银杏内酯与白果内酯比例失调,就是白果内酯含量不足,达不到一定的药效,国内银杏叶制剂质量有待提高。我国在银杏叶制剂开发中还有很大空缺,但目前的首要问题是银杏提取物(GBE)的质量太差,不利于

新剂型的开发。其主要原因有两点:①目前国际上没有统一的质量控制标准,不少厂家虽已生产出高质量的 EGb,但出于竞争原因不肯公布其质量标准;②目前国内提取银杏叶中有效成分的技术低,生产条件差,研究进展缓慢,也影响了银杏叶制剂的质量。截止去年 1998 年止,银杏叶价格降至 8 元/kg,不少国外厂家为了垄断我国银杏产业,提高了出口标准。面对国内外这样严峻的形势,为了振兴我国民族产业,合理利用我国丰富的银杏资源,我国应当尽快颁布统一的质控标准,加强提取工艺研究,提高厂家技术含量,望广大生产者和研究者共同努力开发银杏产业,为广大消费者造福。

参考文献

- 1 陈维军,谢笔钧,胡慰望.银杏萜内酯的化学结构及药理作用研究进展.中国药学杂志,1998,33(9):516
- 2 Braquet P. The effects of PAF- acether on the cardiovascular system and their inhibition by a new highly specific PAF- acether receptor antagonist BN52021. Pharmacol Res Communi, 1986, 18(8): 717
- 3 姚渭溪.银杏叶中活性成分的提取工艺、测定及其进展.中草药,1995,26(8):157
- 4 胡君萍,陈坚.银杏叶有效成分的提取及其制剂分析.西北药学杂志,1998,13(1),36
- 5 李新岗,韦玮,陈薇.富含有效内酯的银杏叶干浸膏制备工艺.中国医药工业杂志,1998,29(1):8

- 12 Li B, Tomoko K, Keiko I, et al. Stilbenoids from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, 1993, 33(6): 1481
- 13 Masae Y, Tomoko K, Li B, et al. Phenanthrene glucosides from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, 1993, 34(2): 535
- 14 Nario S, Mitsu K. Acylated cyanidin glycosides in the purple-red flowers of *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, 1995, 40(5): 1523
- 15 Masae Y, Honda C, Tomoko k, et al. The steroids and triterpenoids from *Bletilla striata* *Nat. Med. (Tokyo)*, 1997, 51(5): 493
- 16 芦金清, 张亚东. 白及胶的实验研究. *中成药*, 1996, 18(12): 2
- 17 何敏. 白及的临床新用进展. *湖南中医学院学报*, 1993, 13(1): 56
- 18 郑笑沸. 白及代血浆的临床应用. *时珍国药研究*, 1995, 6(1): 12
- 19 张新春, 赵建忠, 孙传章等. 白及医用超声耦合剂的研制及应用. *中国中药杂志*, 1992, 17(9): 544
- 20 郑传胜, 冯敏生, 周汝明等. 中药白及的新用途—栓塞动脉治疗肝癌. *中华肿瘤杂志*, 1996, 18(4): 1305
- 21 钱骏, 冯敏生. 应用白及建立门静脉高压动物模型. *中华放射学杂志*, 1998, 32(9): 632
- 22 刘宝文, 杨金坤. 云南白药, 白及治疗严重颅脑损伤并发上消化道出血. *铁道医学*, 1995, 23(4): 235
- 23 胡祥珍. 消炎止血粉治疗激光引起的宫颈糜烂出血的疗效观察. *医药导报*, 1995, 14(3): 119
- 24 刘久法. 复方双白液经内镜治疗消化道出血. *内镜*, 1994, 11(1): 33
- 25 王曦钟. 中药治疗肝硬化合并上消化道出血的疗效观察. *长春中医学报*, 1998, 14(1): 21
- 26 陈鼎祺. 以白及为主治疗胃及十二指肠溃疡. *中医杂志*, 1997, 38(3): 453
- 27 翟正保, 唐寿延. 经胃镜注入白及糊状液治疗上消化道出血 25 例. *江苏中医*, 1997, 18(3): 26
- 28 孔昭遐. 白及治疗胃肠道疾病有良效. *中医杂志*, 1997, 38(8): 2454
- 29 赵习德, 孔祥梅. 白及为膏治疗上消化道溃疡. *中医杂志*, 1997, 38(8): 455
- 30 程洁英. 白及的临床妙用. *青海医学院学报*, 1998, 19(2): 45
- 31 庄绍冰, 黄启权. 白及的近代临床、制剂应用和开发设想. 见: 首届中国药物资源开发研讨会论文汇编, 中国药物资源开发研讨会, 重庆, 1992. 10. 296

(收稿: 1999-06-25)

(上接第 358 页)

- 6 杨义方, 刘小乔. 银杏叶及其制剂的定性定量分析. *国外医药植物药分册*, 1995, 10(4): 147
- 7 Chauret N, Carrier J, Mancini M. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of Ginkgolides produced by *Ginkgo biloba* cell culture. *J Chromatogr*, 1991, 588: 281
- 8 Wolfender J, Maillard M, Host etmann K. Thermospray liquid chromatography-mass spectrometry in phytochemical analysis. *Phytochemical Analysis*, 1994, 5: 153
- 9 钱天秀, 杨世林, 徐丽珍等. 银杏研究现状. *国外医药植物药分册*, 1997, 12(4): 157
- 10 虞杏英, 庄向平, 方涌强等. 高效液相色谱分析银杏中的银杏内酯 B. *药物分析杂志*, 1993, 13(2): 85
- 11 姚渭溪, 杨春, 田宇等. 银杏内酯的快速测定方法的研究. *药物分析杂志*, 1999, 19(1): 38
- 12 Van Beek TA, Scheeren HA, Ranto T, et al. Determination of ginkgolides and bilobalide in ginkgo biloba leaves and phytopharmaceuticals. *J chromatogr*, 1991, 543: 375
- 13 田南卉, 王劫, 历进忠. 高效液相色谱法蒸发激光散射检测器测定银杏叶提取物中内酯的含量. *药物分析杂志*, 1997, 17(4): 282
- 14 Pieta PG, Mauri PL, Rava A. Analysis of terpenes from *Ginkgo biloba* L. extracts by reversed phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatographia*, 1990, 29(5/6): 251
- 15 Van Beek TA, Van Veldhuizen H, Lelyveld GP, et al. Quantitation of bilobalide and ginkgolides A, B, C and J by means of nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, 1993, 4(6): 261
- 16 Steinke B, Muller B, Wanger H. Biological standard of *Ginkgo biloba* L. *Planta Med*, 1993, 59(2): 155
- 17 刘桂霞, 孙玉玮, 金兆祥. *国外医药植物药分册*, 1994, 9(1): 10
- 18 叶俊. 银杏叶研究应用进展. *中成药*, 1998, 20(4): 36
- 19 营佳. 银杏叶药用研究概况. *中国生化药物杂志*, 1996, 71(1): 44
- 20 丁青龙, 赵勇, 刘树东. 不同厂家银杏叶制剂中总黄酮含量的测定. *中国新药杂志*, 1997, 6(6): 455
- 21 陈仲良. 银杏提取物的化学成分和制剂的质量. *中国药学杂志*, 1996, 31(6): 326

(收稿: 1999-06-28)