

# 白果内酯——银杏叶制剂有效成分研究现状

邹凯华

(上海信谊百路达药业有限公司 上海 200023)

中图分类号: R97 文献标识码: A 文章编号: 1006-1533(2008)08-0365-03

白果内酯是从银杏叶中提取而得的萜类内酯的有效部位,是传统的银杏叶提取物的重要活性成分,对拮抗血小板活化因子作用较弱,但对神经系统有保护作用<sup>[1]</sup>。近年研究表明,白果内酯在促进神经生长,防止脑、脊髓神经脱髓鞘以及营养神经、保护神经等方面发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。

但2005年版《中华人民共和国药典》(一部)以及国家食品药品监督管理局WS-096(Z-016)-2004(Z)中,仅对银杏叶制剂中萜类内酯的总量有限制,而对白果内酯的含量没有明确的要求,导致市场所售银杏叶制剂中白果内酯含量参差不齐。而国际上一般将银杏叶提取物产品的生产历程划分为4个时代<sup>[3]</sup>,对第4代明确要求严格标示白果内酯及银杏内酯的含量。

有关研究表明,影响内酯类成分的主要因素有产地、采叶时间、加工方式等<sup>[4]</sup>。因此,通过控制银杏叶产地、采摘时间及加工方式等可提高银杏叶制剂中白果内酯含量。本文就白果内酯的作用机制、质量控制标准及含量影响因素作一综述。

## 1 白果内酯神经保护机制

### 1.1 白果内酯保护线粒体功能

Janssen等<sup>[5]</sup>认为,白果内酯可抑制缺氧引起的血管内皮细胞中三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量的降低,这一作用可能与细胞呼吸功能增强有关,体外试验发现,大鼠口服白果内酯增加了从肝分离出来的线粒体的呼吸控制率(respiratory control ratio, RCR)。由此可推断,由于局部缺血可发生氧化磷酸化(OXPHOS)的解偶联作用,白果内酯能抵抗缺氧引起的ATP降低,只要存在氧气,就能保存线粒体,重新生成ATP。从采用白果内酯处理大鼠体内分离出来的线粒体,可以进一步观察到,这一类萜可保护线粒体免于阿米妥引起的(OXPHOS的)复合物的抑制,以及抗霉素A或粘噻唑引起的复合物II的抑制。

### 1.2 白果内酯与细胞存活

Ahmedye等<sup>[6]</sup>发现,采用白果内酯(1 $\mu$ M)、银杏内酯B(10 $\mu$ M)和银杏内酯J(100 $\mu$ M),可将因24h失血清凋亡小鸡胚胎神经元上升现象降低到控制水平。白果内酯(10 $\mu$ M)还能将小鸡神经元星形孢菌素处理12h引起的凋亡损伤降低到接近控制水平。在取自新生大鼠海马的神经元和星形细胞的混合培养物中,总提取物(EGb761; 100

mg/L)和白果内酯(100 $\mu$ M)使神经元免于因血清缺失而引起的凋亡,白果内酯(100 $\mu$ M)和银杏内酯B(100 $\mu$ M)降低了星形孢菌素引起的凋亡损伤。研究人员认为,EGb761具有抗凋亡活性,白果内酯是其最有效的成分。

### 1.3 白果内酯和基因表达

Chandrasekar等<sup>[7]</sup>以神经生长因子鉴别的大鼠PC12细胞的形态变体加以研究,结果表明,在培养介质中加入白果内酯(15.3或30.6 $\mu$ M)而不是银杏内酯B(11.8或23.6 $\mu$ M),将细胞色素C氧化酶的线粒体DNA(mtDNA)编码的COX II亚单位提高了2倍。

有关NO合成酶(NOS异构体和NO的产生,Chen等人<sup>[8]</sup>研究表明,白果内酯(0.8~3 $\mu$ M)抑制了诱导性酶在人体THP-1巨噬细胞中催化产生NO但不是通过内皮型一氧化氮合酶在人体内皮细胞中产生NO

此外,白果内酯还能增加大鼠星形细胞中胶质细胞源性的神经营养因子和血管内皮生长因子的表达<sup>[9]</sup>。

## 2 国内含量控制标准

### 2.1 国内含量控制标准

2005年版《中华人民共和国药典》(一部):本品(银杏叶片)含萜类内酯以银杏内酯A银杏内酯B银杏内酯C和白果内酯的总量计,不得少于0.25%。国家食品药品监督管理局国家药品标准WS-096(Z-016)-2004(Z):本品(银杏叶胶囊)每粒含萜类内酯以白果内酯、银杏内酯A银杏内酯B银杏内酯C的含量之和计,不得少于2.4mg。

### 2.2 国外含量控制标准

国际上,一般将银杏叶提取物产品的生产历程划分为4个时代:第1代只标定银杏叶提取物的含量;第2代除了标定银杏叶提取物的含量以外,还标定了提取物中黄酮苷的含量;第3代则在第2代的基础上又增加了内酯含量的标定;第4代明确指出要严格标示银杏内酯A银杏内酯B银杏内酯C及白果内酯的含量。当前对银杏叶提取物产品的质量要求为:含黄酮苷22%~24%或以上,含萜类内酯2.5%~4.5%或以上,其中含白果内酯2.0%~4.0%或以上,含银杏酸10mg/kg以下。

## 3 市售银杏叶制剂白果内酯含量

### 3.1 银杏叶口服制剂有效成分质量评价研究

赵荣生、严宝霞等<sup>[10]</sup>受北京市药学会委托,为考察上市后的产品质量,按国家药品标准,采用 HPLC方法对 4 厂家各 3 个批次银杏叶口服制剂的含量进行测定,以银杏叶制剂中银杏总黄酮醇苷和银杏萜类内酯的含量为评价指标,结果显示:各厂家的银杏叶制剂中白果内酯及银杏内酯

表 1 中科院上海药物研究所银杏叶提取物制剂产品分析报告

	样品名称 (缩写)					
	TBN	YXTB	SXN	XL	SIL	YKL
样品批号	001226-1	20010103020	010219-1	20010308	20010308	20000901
样品剂型	片剂	片剂	片剂	颗粒剂	片剂	片剂
萜类内酯含量 (mg粒)	5.37	7.51	3.96	4.09	3.71	3.78
白果内酯 (mg粒)	2.07	2.59	0.632	1.70	1.03	1.87
银杏内酯 - A (mg粒)	1.53	2.30	1.86	1.14	1.32	1.13
银杏内酯 - B (mg粒)	0.81	1.08	0.90	0.52	0.55	0.19
银杏内酯 - C (mg粒)	0.69	1.10	0.42	0.55	0.57	0.44
银杏内酯 - J (mg粒)	0.27	0.44	0.15	0.18	0.24	0.15

### 3.3 百路达银杏叶胶囊产品分析报告

上海信谊百路达药业有限公司采用 HPLC外标法对本

单位部分银杏叶提取物制剂有效成分以及控制成分的含量进行了定量分析,结果见表 2。

表 2 上海信谊百路达药业百路达银杏叶胶囊产品分析报告

项目	样品批号			
	0852001	0852007	0852014	0852019
样品剂型	胶囊	胶囊	胶囊	胶囊
萜类内酯含量 (mg粒)	5.72	5.93	5.88	5.86
白果内酯 (mg粒)	2.59	2.56	2.84	2.75
银杏内酯 - A (mg粒)	1.34	1.46	1.15	1.15
银杏内酯 - B (mg粒)	1.08	1.14	1.28	1.05
银杏内酯 - C (mg粒)	0.48	0.52	0.42	0.63
银杏内酯 - J (mg粒)	0.23	0.25	0.19	0.28

## 4 影响白果内酯含量的主要因素

### 4.1 银杏叶生长环境

刘叔倩等<sup>[11]</sup>通过系统比较全国不同气候的银杏分布区银杏叶中黄酮和萜内酯含量,发现不同气候区之间银杏叶中这两类成分含量差异很大。空气和土壤温度对银杏生长影响很大。银杏生长季节的有效起点温度为 6~10℃,10℃以上才开始活跃,有效温度的积累值为生物有效积温。积温和年均温度,可作为银杏对温度要求的指数,以衡量银杏在某地区能否栽植的标准。年平均气温为 10℃是银杏生长的低温界线,小于 10℃则生长不良甚至受冻而死亡。长江流域年均气温在 10~22℃,而以年均气温 15~16℃为最适宜地区。

### 4.2 银杏叶树林

一般认为银杏叶中黄酮和萜内酯的含量:幼龄树 > 老龄树。

A B C 这 4 种萜类内酯的含量都不一样,其中 D 有 2 个批次未检出白果内酯。

### 3.2 市售银杏叶提取物制剂产品分析报告

中国科学院上海药物研究所采用 HPLC外标法对部分市售银杏叶提取物制剂有效成分以及控制成分的含量进行了定量分析,结果见表 1。

### 4.3 采摘时间

银杏叶中黄酮类成分含量最高的月份,分别报道为:4~5月,9~11月;萜类内酯成分含量最高的月份,分别报道为:5月及 8~10月。所以各产地的银杏叶最佳采收条件应在分析测定后。

### 4.4 加工方式

银杏叶中黄酮类和萜内酯类的提取分离方法有:有机溶剂萃取法、树脂法、酶法、超临界 CO<sub>2</sub>萃取法和高速逆流色谱法等<sup>[11]</sup>。张立国等提出在乙醇-水体系中加入 10% 对内酯有较高溶解度的溶剂,形成新的溶剂体系 EPW,并用氮气保护提取,使黄酮含量提高 22%,内酯含量提高 33%。

## 5 结语

为保证银杏叶制剂中所含白果内酯的含量,确保产品

的质量及疗效,上海信谊百路达药业充分考虑光照、温度、土壤、气候、水质等综合因素,在生态岛屿——崇明岛建立了6000多亩银杏种植基地;严格遵循GAP标准;确定采摘的最佳时间为每年的8~9月,并根据采样检测确定最佳的采摘日期;同时采用独有的二次低温大孔树脂吸附法提取有效成分。

目前,百路达正在建立自己的标准指纹图谱,并将指纹图谱引入到其产品银杏叶胶囊质量评价体系中,以提高该产品在国际市场上的竞争力。

#### 参考文献

- 1 Steinke B, Müller B, Wagner H. Biological standardization of Ginkgo extracts [J]. *Planta Med* 1993, 59 (2): 155-160
- 2 李源莉, 陈建宗. 银杏叶提取物防治阿尔茨海默病的研究进展 [J]. *国际中医中药杂志*, 2006, 28(3): 148-150.
- 3 石琳琳, 卢丹, 姚文华. 银杏叶提取物治疗糖尿病神经病变 [J]. *白求恩医科大学学报*, 1999, 25(5): 667-669.
- 4 王弘, 陈旭. 影响银杏叶有效成分的有关因素分析 [J]. *中草药*, 1999, 30(8): 631-633.
- 5 Janssens D, Michiels C, Delaive F, et al. Protection of hypoxia-induced ATP decrease in endothelial cells by ginkgo biloba extract and bilobalide [J]. *Biochem Pharmacol* 1995, 50 (7): 991

-999.

- 6 Ahlmeier B, Krieglstein J. Pharmacological studies supporting the therapeutic use of Ginkgo biloba extract for Alzheimer's disease [J]. *Pharmacopsychiatry* 2003, 36 (1): 8-14
- 7 Chandrasekaran K, Liu L, Hatanpaa K, et al. Chronic exposure of neural cells to elevated intracellular sodium decreases mitochondrial mRNA expression [J]. *Mitochondrion* 2001, 1 (2): 141-150
- 8 Cheung F, Siow YL. Inhibition by ginkgolides and bilobalide of the production of nitric oxide in macrophages (THP-1) but not in endothelial cells (HUVEC) [J]. *Biochem Pharmacol* 2001, 15; 61 (4): 503-510.
- 9 Zheng SX, Zhou LJ, Chen ZL, et al. Bilobalide promotes expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor in rat astrocytes [J]. *Acta Pharmacol Sin* 2000, 21(2): 151.
- 10 赵荣生, 严宝霞, 翟所迪, 等. 银杏叶口服制剂有效成份质量评价研究 [J]. *临床药物治疗杂志*, 2003, 1(3): 54-58
- 11 杨奕全, 朱代平. 银杏果实和叶子的化学研究进展 [J]. *广西中医学院学报*, 2001, 4(4): 126-130.

(收稿日期: 2008-06-18)

## 第八届世界制药原料中国展上高端会议频频举行

由欧洲博闻咨询有限公司 (CMP Information) 和中国医药保健品进出口商会主办, 上海博华国际展览有限公司协办的第八届世界制药原料中国展 (CPhI& ICSE China 2008) 暨 2008 世界制药机械、包装设备与材料中国展 (P-MEC China 2008), 于 2008 年 6 月 24 日至 26 日在上海新国际博览中心成功举办。本届展会以其空前的规模、广泛的交流、高端的会议、鲜明的亮点、完善的服务, 赢得了来自世界各地的中外展商和观众的广泛赞誉, 对中国原料药行业和中国制药工业的发展起着持续而又积极的推进作用。

本届展会同期举办了 62 场涉及行业热点和发展创新的学术研讨会和高端论坛, 其中包括: 1 场欧美贵宾采购团与中国供应商见面会、5 场欧美 GMP 专业培训、6 场植物提取物专题论坛、9 场学术研讨会、18 场技术交流会、23 场医药国际论坛。各场会议吸引了大量听众到场, 场场爆满。会议内容紧贴主题, 见解精辟独到, 听众提问踊跃, 互动交流热

烈。

其中, 由中国医药保健品进出口商会携手国家食品药品监督管理局、上海医药工业研究院、中国外商投资企业协会、中国制药装备行业协会、MS 市场调研咨询 (上海) 有限公司、安永会计师事务所等多家机构, 首次举办的 2008 “中国与世界” 医药论坛, 是众多高端会议的亮点。会议围绕全球医药市场的发展趋势、中国药品监管形势与政策趋向、中国制药企业境外上市路径、GMP 后时代国际制药机械行业发展趋势及面临的挑战等行业内的热点问题积极探讨, 各路专家与参会者展开互动交流, 共商行业发展。

据悉, 第九届世界制药原料中国展 (CPhI& ICSE China 2009) 暨 2009 世界制药机械、包装设备与材料中国展 (P-MEC China 2009) 将于 2009 年 6 月 23 日至 25 日在上海新国际博览中心召开。

(沪讯)

(收稿日期: 2008-07-26)