

银杏萜内酯的研究概况

□叶敏 果德安* 北京大学药学院中医药现代研究中心 北京 100083)

摘要：银杏萜内酯是血小板活化因子的强拮抗剂，对心脑血管疾病具有显著的疗效。本文对近10年银杏萜内酯在提取分离、含量测定、药理活性、药代动力学、组织培养以及生物合成等方面的研究概况作了综述。

关键词：银杏 银杏萜内酯 血小板活化因子

银杏(*Ginkgo biloba* L.)是我国古老树种之一，作为侏罗纪的孑遗植物，基本保持了1.5亿年前的生态特征，因而成为一科一属一种的特殊植物。其种子作为“白果”入药已有600多年的历史，但直至20世纪70年代发现了银杏叶提取物对心脑血管疾病有良好的疗效，银杏的药用价值才受到了广泛的关注。银杏主要含有黄酮、二萜内酯类化学成分。其中黄酮类化合物主要来源于银杏叶，含量较高，约占2.5%~6%，种类约

有50种之多。但目前的实验结果表明，此类化合物不大可能是银杏关键性的有效成分。

20世纪80年代，研究发现银杏内酯是血小板活化因子(PAF)的强拮抗剂，对于心脑血管疾病具有显著的疗效，引起国际上银杏研究的高潮，其中的大部分研究是针对银杏内酯进行的。本文将介绍近10年银杏内酯类成分的提取分离与化学结构、含量测定、药理活性、体内药代动力学、植物组织培养以及生物合成等方面的研究概况。

一、提取分离与化学结构

1. 银杏内酯的种类及结构特点

目前从银杏中分离得到的二萜内酯有5个，即银杏内酯(ginkgolide) A、B、C、J、M (见图1)。银杏内酯具有独特的二十碳骨架结构，嵌有一个叔丁基和六个五元环，包括一个螺[4,4]壬烷，一个四氢呋喃环和三个内酯环，是一类罕见的天然化合物，至今尚未发现存在于其他植物中。此外，银杏中还含有与以上二萜

收稿日期：2002-11-25

* 本文联系人:果德安,教授,博士生导师,北京大学药学院中医药现代研究中心主任, E-mail: gda@mail.bjmu.edu.cn, Tel: 010-62091516。

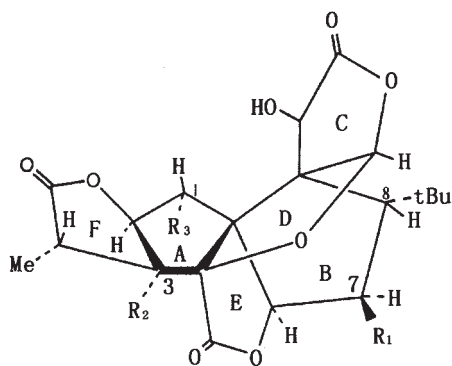


图1 银杏内酯 (ginkgolide)

银杏内酯	R ₁	R ₂	R ₃
A	H	OH	H
B	H	OH	OH
C	OH	OH	OH
J	OH	OH	H
M	OH	H	OH

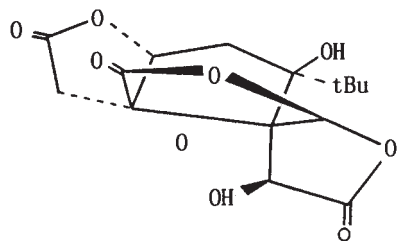


图2 白果内酯 (bilobalide)

内酯结构相关的倍半萜化合物白果内酯 (bilobalide) 图2)。

银杏内酯的结构非常复杂, 早期对其结构的阐明是采用NMR、CD等物理手段及大量的化学反应, 但由于分子中存在较多的手性中心, 对于某些基团的绝对构型一直存有争议。近年, 游松及Beek等分别利用NOE差谱技术和ROESY谱, 确定了银杏内酯B和C结构中的1-OH应为 α 构型, 此结

论与X-射线单晶衍射及化学合成所得的结果完全一致^[1-2]。

2. 银杏内酯的提取分离方法

银杏内酯是银杏的主要活性成分, 但在原植物中含量较低, 且杂质干扰严重, 因此其分离制备具有一定的难度。目前已摸索出一系列经济、简便的方法提取银杏内酯或制备富含内酯的银杏叶制剂。

(1) 溶剂法^[3]。银杏叶醇提物经石油醚脱脂后用乙酸乙酯萃取, 萃取物经NaHCO₃溶液洗涤除去酚性成分后, 浓缩即得银杏内酯粗结晶, 经HPLC检测含银杏内酯81.5%, 产率为0.6%。

(2) 树脂吸附法^[4]。银杏叶醇提物依次经吸附树脂柱处理, 聚酰胺柱除鞣质, 所得干浸膏经HPLC测定含银杏内酯10.6%。

(3) 硅胶柱色谱法。Van Beek等^[5]对银杏叶提取物进行溶剂处理后, 在含有6.5%NaOAc的硅胶柱上进行中压柱层析, 可大量制备高纯度的银杏内酯A、B、C、J及白果内酯。

(4) 超临界流体萃取法。Chiu等^[6]采用超临界二氧化碳流体从银杏叶中提取银杏内酯类成分。单独的二氧化碳流体并无作用, 只有当加入乙醇作为改性剂时才能提取出来, 而且提取能力随着改性剂的增多而加强。

二、含量测定

银杏内酯的含量是银杏叶及其制剂质量控制的关键指标。但是, 由于银杏内酯在银杏叶中含量

较低, 仅为万分之几甚至更低, 紫外吸收差, 而且往往存在大量的酚性强吸收干扰物质, 迄今尚无真正快速、简便的定量检测方法^[7]。

1. 高效液相色谱法 (HPLC)

银杏内酯含量测定研究报道最多的是采用高效液相色谱法。

(1) 高效液相色谱-紫外检测 (HPLC-UV)。紫外检测器是HPLC最常用的检测器, 但银杏内酯结构中没有共轭, 酯的特征紫外吸收峰 (λ_{20nm}) 很弱, ϵ 值仅为 10^3 , 同时由于大量黄酮等强吸收酚性物质的干扰, 定量分析比较困难。Pietta^[8]和Van Beek^[9]等利用氧化铝柱对样品进行固相萃取以除去杂质, 对测定方法有所改善。

(2) 高效液相色谱-示差折光检测 (HPLC-RI)。由于UV检测器的使用受到限制, 示差折光检测器广泛用于银杏内酯的含量测定^[10-12]。该方法灵敏度可达到 $1\mu g$, 但仍不适用于微量分析, 且基线稳定性较差。姚渭溪等^[13]采用氧化铝柱层析和HPLC-RI联用的纯化分离技术, 缩短了纯化时间, 且回收率可达99%。

(3) 高效液相色谱-蒸发光散射检测 (HPLC-ELSD)。蒸发光散射检测器属通用型检测器, 灵敏度较高。Camponovo等用HPLC-ELSD法测定银杏叶及制剂中萜内酯的含量, 前处理简单, 一次分析仅需20min, 且分辨率较好, 可用于定量分析^[4]。田南卉等^[15]采用HPLC-ELSD法测定了银杏叶提取物中银杏内酯A、B、C及白果内酯的含量, 分辨率、灵敏度及稳定

性均符合定量分析的要求。

4) 高效液相色谱-质谱检测 (HPLC-MS)。Mail-ard 等建立了 HPLC-MS 联用技术, 用于测定银杏叶及其制剂中银杏内酯的含量。银杏内酯的 TSP-MS (热喷雾质谱) 测定仅显示准分子离子 $[M+NH_4]^+$ 峰, 无随后碎片峰出现, 一次分析时间仅 12min。

2. 气相色谱法 (GC)

Chauret 等将银杏内酯及白果内酯衍生化后, 用 GC-EI-MS 联用技术检测, 银杏内酯 A 的回收率为 90%^[6]。Lang 等^[7]建立了三甲基硅醚衍生化-GC-FID 的方法, 测定银杏叶及其制剂中银杏内酯 A、B、C 的含量, 采用内标法, 色谱峰分离良好, 回收率为 95%~105%。

3. 薄层扫描法 (TLC)

颜玉贞等^[8]采用硅胶板层析, 展毕用醋酐蒸气熏 30min, 再于 160℃加热 30min 后用荧光扫描。银杏内酯 A、B、C 及白果内酯的最低检出限度 (μg) 分别为 0.12, 0.22, 0.25 及 0.35, RSD 为 2%~3.7%, 回收率 95.3%~98.8%。唐于平等采用 TLC 法测定银杏叶提取物中银杏内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。样品经硅胶 GF₂₅₄ 板展开后, 150℃烘 40min, 双波长扫描, $\lambda_s=370\text{nm}$, $\lambda_R=300\text{nm}$, 精密度 RSD 为 2%~4%, 回收率为 99% 左右^[9]。

4. 毛细管电泳法 (CPE)

Oehrle 建立了 CE 测定方法^[20]。采用熔融硅胶毛细管柱, UV185nm 检测, 柱温 30℃, 以 25mmol/L 磷酸盐和 90mmol/L 十二烷基硫酸钠为缓冲液, 18min 内可使银杏内酯 A、

B 及白果内酯较好分离。

5. 超临界流体色谱法 (SFC)

Thompson 等采用 SFC-ELSD 法测定银杏叶及其制剂中银杏内酯的含量。该法用去活性氨基硅胶高效液相色谱柱, 流动相为含 12% 甲醇的 CO_2 , 280atm, 40℃, 流速为 3.5 或 4.0ml/min。进样前用硅胶固相萃取进行样品净化, 在 10min 内有良好的基线分离^[41]。

6. 核磁共振波谱法 (NMR)

银杏内酯结构中 H-12 的 NMR 信号出现在 6.0~6.55ppm 之间, 呈现出尖锐的单峰, 且 5 种银杏内酯 H-12 信号相互不重叠, 因此可以直接通过积分值分别计算各种银杏内酯的含量。该方法灵敏度较高。

7. 影响银杏叶中萜内酯含量的相关因素研究

Van Beek 等记录了银杏树一年中春季至秋季不同时间点银杏内酯 A、B、C、J 及白果内酯的含量, 结果表明春季时银杏内酯含量最低, 随后逐渐升高, 夏末至秋初时达到最高点, 而后又逐渐降低^[6]。虞杏英等^[42]发现不同地区产银杏叶同一生长期银杏内酯的含量可相差一倍以上。王先荣等^[43]采用 HPLC 法测定了银杏叶中银杏内酯 A、B、C 及白果内酯的含量, 结果表明总萜内酯的含量在 8 月份最高, 幼树叶的含量明显高于老树, 且伴随树龄的增长, 总萜内酯含量逐渐下降。刘叔倩等分析了我国 6 个农业气候区 23 份银杏叶中萜内酯的含量, 结果表明不同气候区银杏叶中萜内酯含量差异显著, 以贵州高原区所产

银杏叶中萜内酯含量最高^[44]。

三、药理活性

银杏内酯的药理研究报道非常广泛, 基本可以归纳为以下几个方面:

1. 对血小板聚集的作用

血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 是由血小板和多种炎症组织分泌产生的一种内源性磷脂, 是迄今发现的最有效的血小板聚集诱导剂, 它与许多疾病密切相关。1984 年 Braquet 等证明银杏内酯对 PAF 受体有强大的特异性抑制活性, 目前被认为是最有临床应用前景的天然 PAF 受体拮抗剂, 其中以银杏内酯 B 的活性最强。这种抑制是竞争性的, 银杏内酯 A、B、C、J 的 IC_{50} 分别为 0.74, 0.25, 7.1 和 54.0 μM ^[25-26]。银杏内酯作为 PAF 受体拮抗剂存在一定的构效关系^[47]。银杏内酯 A 和 B 由于 1 位和/或 3 位 OH 的存在, PAF 拮抗作用最强, C 和 J 在 7 位有 OH 取代, 抑制作用减弱。银杏内酯 J 由于没有 1 位 OH, 活性最低。此外, 人工合成的银杏内酯 B 的 1-甲氧基及 1-乙氧基衍生物均表现出与天然银杏内酯相似的活性。银杏内酯 B 失去内酯环 C 后, 活性基本保持不变, 但失去叔丁基则活性大为降低。由此看来, 银杏内酯作为 PAF 受体拮抗剂的主要活性中心可能是 E 环、F 环以及叔丁基^[8-29]。

2. 对中枢神经系统的保护作用

银杏内酯 A (50mg/kg) 和银杏内酯 B (100mg/kg) 在大鼠大脑局部缺血病灶模型中, 对大脑都有保

护作用,但银杏内酯C和J无保护作用;银杏内酯B ($\mu\text{mol/L}$)和白果内酯 ($0\mu\text{mol/L}$)可保护谷氨酸盐引起的鼠海马神经元的损伤^[40]。

3. 对缺血损伤的保护作用

在缺血组织中,由于血小板聚集使组织血流量减少,从而阻碍细胞机能的恢复。倘若脑组织的血流量不足,则可导致多发性脑缺血或中风。银杏内酯B能阻止局部缺血引起的心律不齐,但对心率、冠脉循环和心肌功能均无作用,从而提示银杏内酯B可抗心律不齐而不干扰心脏的正常功能^[41]。Borobia等^[32]发现银杏内酯可改善缺血再灌注损伤肝的恢复,提高肝缺血大鼠的存活率,显著降低肝缺血损伤。

4. 抗休克作用

Moore等^[43]的研究表明,银杏内酯B对肾血管收缩及抗原性休克引起的灌注液中组胺、血栓烷 B_2 (TXB_2)和慢反应物质A(SRS-A)水平的增高有明显拮抗作用,也可减少血栓素的释放,提高致命性内毒素血症犬的存活率,降低酸中毒。

5. 其它作用

银杏内酯B可干扰不同形式的豚鼠自动致敏反应^[44],可显著降低牛磺胆酸钠诱导产生的急性胰腺炎大鼠的死亡率,延长存活时间,减轻胰组织的病理模型^[45]。此外,银杏内酯B还可延长心脏异体移植的存活寿命^[46]。

四、药代动力学研究

Li等^[47]研究了家兔口服富含银杏内酯B ($4.49\%\text{w/w}$)的银杏叶提

取物BioGinkgo 27/7后银杏内酯的生物利用度。以PAF受体结合抑制作用为指标,测定血浆中银杏总内酯的浓度。结果表明口服给药量为 40mg/kg 时,血浆中银杏内酯的浓度呈现出双峰现象, T_{max} 分别为2h和5h, C_{max} 为 $18.8 \pm 1.97 \text{ } \mu\text{g/mL}$,且生物利用度约为另一种银杏叶提取物24/6的1.40–1.83倍。Biber和Koch^[48]进一步研究了家兔口服银杏提取物EGb761的生物利用度。采用GC/MS法测定血浆中银杏内酯A、B和白果内酯的含量。结果表明,口服给药量为 30mg/kg 时,三种成分的 C_{max} 分别为68, 40和 159ng/mL , $t_{1/2}$ 分别为1.7, 2.0和2.2h。且认为口服EGb761后银杏内酯的生物利用度高于口服BioGinkgo 27/7。

五、组织培养法生产银杏内酯

Huh等报道银杏内酯(A、B、C)在茎尖和由胚起源的根等器官培养物中可分别达到0.08%和0.03%,而在愈伤组织和悬浮细胞中含量仅分别为0.0026%和0.0047%,且转接后含量更低,其原因可能是器官组织中的某些生物合成酶在细胞组织培养物中缺乏或功能低下^[49]。Laurain等^[40]采用HPLC-RI法测定了由不同银杏外植体建立的细胞培养体系中银杏内酯及白果内酯的含量。经发根农杆菌(*Agrobacterium rhizo-genes*)感染的银杏组织在MT培养基中培养6~12周,能产生冠樱碱(pines),但未能生成毛状根。其细胞悬浮培养物中总内酯的含量可达0.065%

(干重),白果内酯为 $200 \text{ } \mu\text{g/g}$ (干重)。由银杏的雌性配子体建立的细胞悬浮培养体系中总内酯的含量为0.087%(干重),其中银杏内酯B可达 $160 \text{ } \mu\text{g/g}$ (干重)。Balz等采用GC/MS法测定了80个银杏细胞培养体系中银杏内酯和白果内酯的含量。细胞系培养4年后进行测定,结果表明培养物中银杏总内酯(A、B、C、J)的含量变化范围为 $30\text{ng} \sim 1.8 \text{ } \mu\text{g/g}$ (干重),白果内酯在所有细胞系中均未检测到。内酯的含量与培养条件(培养基、光照)以及外植体的种类等因素均无显著的相关关系。由于细胞培养物中内酯含量较低,作者认为通过植物细胞培养生产银杏内酯没有实用价值^[41]。戴均贵等^[42]比较了不同培养基、激素、碳源和氮源对银杏愈伤组织生长及银杏内酯B形成的影响,结果表明较好的条件是MS、DCR或P6培养基, 2.0mg/L 2,4-D, 0.5mg/L NAA, 4%蔗糖,总氮量为 60mmol/L ,银杏内酯B的含量最高可达到0.0223%(干重)。此外,添加前体物质及应用真菌诱导子也是提高银杏内酯含量的有效手段^[43]。郑玉果等^[44]采用固体培养的方法进行银杏愈伤组织的培养,考察了外植体、光照、MS培养基成分以及激素等因素对愈伤组织诱导及生长的影响,并经生物法和HPLC法测得愈伤组织中银杏内酯A和B的含量在 $10 \sim 50 \mu\text{g/g}$ 之间。

六、银杏内酯的生物合成研究^[45]

早在1971年, Nakanishi等用

[^{14}C] MVA饲喂银杏幼苗,证明了银杏内酯和白果内酯经异戊烯基焦磷酸 (PP) 聚合生成香叶基香叶基焦磷酸 (GGPP) 而生成,符合生源的异戊二烯法则^[46]。Neau等采用酶抑制剂及同位素标记的方法建立了二萜烷类与银杏内酯之间的生物合成关系,并提出了银杏内酯的生物合成途径,认为 levopimaradiene、dehydroabietane 等碳氢化合物是银杏内酯的重要生物合成前体。进一步的研究表明银杏内酯是在根部合成的,随后转移到叶中储存,二者形成典型的源-池模式^[47-48]。2001年, Schepmann等从银杏仔苗的根部成功提取到RNA,并克隆出一条全长2681bp的二萜合成酶基因,其体外表达产物可催化GGPP生成 levopimaradiene。这是已证明的银杏内酯生物合成的第一步反应^[49]。

七、小结

银杏萜内酯是一类结构特异的天然有机化合物,是PAF受体的强拮抗剂,具有多种显著的药理活性,有着良好的临床应用前景。银杏内酯的测定有HPLC、GC、TLCS、HPCE等多种方法,其中应用最为普遍的当属HPLC法,但由于此类化合物紫外吸收差,且往往有多种干扰性物质存在,目前尚未见有前处理简便、通用、快速的含量测定方法。银杏内酯的药理活性大多与其PAF拮抗作用有关。其结构与药效的相关关系研究对于新的PAF拮抗剂的寻找以及合成具有重要意义。

天然的银杏萜内酯目前仅存在于银杏树中,且含量甚低,其全合成虽已完成,但工艺复杂,产率低。以上因素已成为银杏内酯深入研究及开发的重要障碍。国内外学者已进行了大量银杏细胞组织培养研究,使培养物中银杏内酯的含量大幅提高。但由于植物组织培养物生长缓慢,且培养物中内酯含量仍相对较低,目前尚未取得突破性进展。生物合成研究是研究植物次生代谢物的天然合成途径以及相关的催化酶。银杏内酯生物合成研究的阐明将有助于了解其植物体内合成的限速步骤、关键酶甚至控制基因,从而通过基因工程方法提高银杏内酯、白果内酯等次生代谢物的生物合成能力。

参考文献

- 1 游松,姚新生,崔承彬,等.银杏叶中银杏内酯的分离与结构鉴定.中国药物化学杂志,1995,5(4):258~265.
- 2 T.A.Van Beek, P.P.Lankhorst. Conformation of the C-1 stereochemistry of ginkgolides by NMR. *Tetrahedron*, 1996, 52(12): 4505~4514.
- 3 李新岗,陈薇,韦玮,等.银杏叶中银杏内酯的实验室提取方法研究.中国医药工业杂志,1998,29(1):7~8.
- 4 李新岗,韦玮,陈薇.富含银杏内酯的银杏叶干浸膏制备工艺.中国医药工业杂志,1998,29(1):8~9.
- 5 T.A. Van Beek, G.P. Lelyveld. Preparative isolation and separation procedure for ginkgolides A,B,C and J and bilobalide. *J. Nat. Prod.* 1997, 60(1): 735~738.
- 6 Kou-Lung Chiu, Ya-Chuan Cheng, JunHao Chen, et al. Supercritical fluids extraction of *Ginkgo ginkgolides and flavonoids*. *Supercritic Fluids* 2002, 24: 77~87.

- 7 Teris A. van Beek. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts. *J. Chromatogr. A*, 2002, 967: 21~55.
- 8 PG. Pietta, P. L. Mauri, A. Rava. Analysis of terpenes from *Ginkgo biloba* L. extracts by reversed phase High-Performance Liquid Chromatography, 1990, 29(5-6): 251~253.
- 9 T.A. Van Beek, H. A. Scheeren, T. Rantio, et al. Determination of ginkgolides and bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves and phytopharmaceuticals. *J. Chromatogr.* 1991, 543(1): 375~387.
- 10 T. A. Van Beek, G. P. Lelyveld. Concentration of ginkgolides and bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves in relation to the time of year. *Planta Med.* 1992, 58(5): 413~416.
- 11 王颖,袁林,厉进忠,等.银杏叶提取物制剂中萜类内酯含量考察.中国药学杂志,1998,33(1):655~657.
- 12 张鉴,潘见,谢惠明,等.反相高效液相色谱法测定银杏叶提取物中5种银杏内酯的含量.分析化学,2000,28(1):53~56.
- 13 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):38~41.
- 14 F.F. Camponovo. Evaporative light-scattering and thermospray mass-spectrometry-2 alternative methods for detection and quantitative liquid-chromatographic determination of ginkgolides and bilobalide in *Ginkgo biloba* leaf extracts and phytopharmaceuticals. *Phytochem. Anal.* 1995, 6: 141~148.
- 15 田南卉,王颖,厉进忠,等.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):282~283.
- 16 N. Chauret, J. Carrier, M. Mancini, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of ginkgolides produced by *Ginkgo biloba* cell culture. *J. Chromatogr.* 1991, 588(1-2): 281~287.
- 17 Q. Lang, C.M. Wai. An extraction method for determination of ginkgolides and bilobalide in *Ginkgo* leaf extracts. *Anal.*

- Chem.* 1999, 71 (4) : 2929~2933.
- 18 颜玉贞, 谢培山, 钱浩良, 等. 银杏叶提取物制剂萜类内酯薄层色谱荧光扫描定量测定研究. *中国中药杂志*, 1997, 22 (1) : 159~162.
 - 19 唐于平, 楼凤昌, 郑卫平. 薄层扫描法测定银杏提取物中萜内酯的含量. *药物分析杂志*, 1998, 18 (1) : 305~307.
 - 20 S. T. Oehle. Analysis of ginkgolides and bilobalides by capillary electrophoresis. *J. Liq. Chromatogr.* 1995, 18 (4) : 2855~2859
 - 21 J. Thompson, B. Strode III, L. T. Taylor, et al. Supercritical fluid chromatography of ginkgolides A, B, C and J and bilobalide. *J. Chromatogr. A* 1996, 738 (1) : 115~122.
 - 22 虞杏英, 庄向平, P. Braquet, 等. 高效液相色谱分析银杏叶中的银杏内酯. *药物分析杂志*, 1993, 13 (1) : 85~87.
 - 23 王先荣, 周正华, 杜安全, 等. 不同生长季节及生长年限银杏叶总萜内酯含量相关性研究. *中国药科大学学报*, 2000, 31 (1) : 88~90.
 - 24 刘叔倩, 郑俊华, 王弘, 等. 不同气候区银杏叶中黄酮和萜内酯含量的变化. *中草药*, 2000, 31 (6) : 424~426.
 - 25 G. Montruccio, G. Alloatti, G. Camussi. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol. Rev.* 2000, 80 : 1669~1699.
 - 26 K. M. MacLennan, C. L. Darlington, P. F. Smith. The CNS effects of Ginkgo biloba extracts and ginkgolide B. *Prog. Neurobiol.* 2002, 67 (3) : 235~257.
 - 27 L. Hu, Z. Chen, X. Cheng, et al. Chemistry of ginkgolides : structure-activity relationship as PAF antagonists. *Pure Appl. Chem.* 1999, 71 (6) : 1153~1156.
 - 28 H. Le-Solleu, M. H. Langlois, E. Kummer, et al. Determination of a PAF antagonist phar-macophore using combined Molecular Potential and Molecular Lipophilicity Potential. *Drug Des. Discov.* 1994, 12 (2) : 149~167.
 - 29 G. Ostermann, B. Hofmann, H. P. Kertscher, et al. PAF-agonistic and antagonistic behaviour of new synthetic ether phospho-lipids. *J. Lipid Mediat.* 1991, 3 (2) : 225~237.
 - 30 F. V. DeFeudis, K. Drieu. Ginkgo biloba extract (EGb761) and CNS functions: basic studies and clinical applications. *Curr. Drug Targets.* 2000, 1:25~58.
 - 31 T. Wittwer, M. Grote, P. Oppelt, et al. Impact of PAF antagonist BN52021 (Ginkgolide B) on post-ischemic graft function in clinical lung transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* 2001, 20:358~363.
 - 32 F. Borobia, J. Figueras, J. Escriva, et al. Platelet activating factor antagonists BN52021 improves survival in normo-thermic liver ischemia in rats. *Transplant Proc.* 1993, 25 (4) : 2543~2544.
 - 33 J. Morre, M. Earnest, A. Disimone. A PAF receptor antagonist, BN52021, attenuates thromboxane release and improves survival in lethal canine endotoxemia. *Cir. Shock*, 1991, 35 (1) : 53~59.
 - 34 S. Desquand, J. Lefort, C. Dumarey, et al. Interference of BN52021 with the bronchopulmonary effects of PAF-acether in the guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.* 1986, 127 (1) : 83~95.
 - 35 王兴鹏, 袁耀宗, 徐家裕. 银杏苦内酯参考资料急性胰腺炎大鼠的治疗及机制. *中国药理学通报*, 1995, 11 (1) : 199~201.
 - 36 M. Foregh. Prolongation of cardiac allograft survival with BN52021. *Transplantation*, 1986, 42 (1) : 86~88.
 - 37 C. L. Li, Y. Y. Wong. The bioavailability of ginkgolides in Ginkgo biloba extracts. *Planta Med.* 1997, 63 (6) : 563~565.
 - 38 A. Biber, E. Koch. Bioavailability of ginkgolides and bilobalide from extracts of Ginkgo biloba using GC/MS. *Planta Med.* 1999, 65 (1) : 192~193.
 - 39 H. Huh, E. J. Staba. Ontogenic aspects of ginkgolide production in Ginkgo biloba. *Planta Med.* 1993, 59 : 232~239.
 - 40 D. Laurain, J. Tremouillaux-Guiller, J.-C. Chenieux, et al. Production of ginkgolide and bilobalide in transformed and gametophyte derived cell cultures of Ginkgo biloba. *Phytochemistry*, 1997, 46 (1) : 127~130.
 - 41 J. P. Balz, D. Courtois, J. Drieu, et al. Production of ginkgolides and bilobalide by Ginkgo biloba plants and tissue cultures. *Planta Med.* 1999, 65 (1) : 620~626.
 - 42 戴均贵, 朱蔚华, 吴蕴祺, 等. 不同培养基、激素、碳源和氮源对银杏愈伤组织生长及银杏内酯B形成的影响. *中草药*, 1998, 29 (增刊) : 63~66.
 - 43 戴均贵, 朱蔚华, 吴蕴祺, 等. 前体及真菌诱导子对银杏悬浮培养细胞产生银杏内酯B的影响. *药学报*. 2000, 35 (1) : 151~155.
 - 44 郑玉果, 于荣敏, 姚新生, 等. 银杏愈伤组织培养及银杏内酯测定的研究. *沈阳药科大学学报*, 1999, 16 (1) : 10~15.
 - 45 常振战, 果德安, 钟声, 等. 银杏内酯与白果内酯细胞工程及生物合成的研究进展. *中草药*, 1998, 29 (增刊) : 28~30.
 - 46 K. Nakanishi, K. Habaguchi. Biosynthesis of ginkgolide B, its diterpenoid nature and origin of the tert-butyl group. *J. Am. Chem. Soc.* 1971, 93 (4) : 3546~3547.
 - 47 A. Cartayrade, E. Neau, C. Sohler, et al. Ginkgolide and bilobalide biosynthesis in Ginkgo biloba. 1. Sites of synthesis, translocation and accumulation of ginkgolides and bilobalide. *Plant Physiol. Biochem.* 1997, 35 (1) : 859~868.
 - 48 E. Neau, A. Cartayrade, J. P. Balz, et al. Ginkgolide and bilobalide biosynthesis in Ginkgo biloba. 2. Identification of a possible intermediate compound by using inhibitors of cytochrome P-450-dependent oxygenases. *Plant Physiol. Biochem.* 1997, 35 (1) : 869~879.
 - 49 H. G. Schepmann, J. Pang, S. P. T. Matsuda. Cloning and characterization of Ginkgo biloba leupimaradiene synthase, which catalyzes the first committed step in ginkgolide biosynthesis. *Arch. Bio-chem. Biophys.* 2001, 392 (1) : 263~269.

责任编辑：柳 莎 刘维杰)

Medicines, Chengdu Diao Group, Chengdu 610041, Sichuan Province)

This article briefly describes the design and application of computer control system in the “Pilot-plant-scale Base of the National Engineerings Research Center for Natural Medicines”, including the design of control projects, the design of hardware of control system, the design of application softwares of control system and the efficiency of the system in application and its plan for further research and development.

Key Words: natural medicine, Chinese traditional medicine engineering, extraction, computer control, control system

progress in Study of Ginkgolides in Recent Years

Ye Min and Guo De'an

(Modern Research Institute for Traditional Chinese Medicine and School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083)

Ginkgolides are the strong antagonists of platelet activating factors, which have notable curative effectiveness for cardiocerebrovascular diseases. This paper summarizes the studies on the extraction and isolation, the determination of content, the pharmacological activity, the pharmacokinetics, the tissue culture and the biosynthesis of ginkgolides.

Key Words: Ginkgo biloba, ginkgolide, platelet activating factor (PAF), summary

The Latest Progress in Study of DNA Molecular Marker Used in Quality Evaluation of Chinese Medicinal Materials

Zhang Ying

(Institute of Chinese Materia Medica, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

Cao Hui

(National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Zhuhai Municipality 519020, Guangdong, China)

Modern biotechnology has entered into a new era since the PCR technology came into being in the 1980s. With the emergence of the technology and the maturation of DNA molecular marker, the methodology of quality evaluation of Chinese medicinal materials, based on their form, color, taste and quality, is usefully supplemented by the modern one based on such objective indexes as their morphohistology, anatomy and chemistry, thus settling the problems which cannot be expounded and expressed by the former methodology. This article summarizes the latest study on the application of the technology of DNA molecular marker to the quality evaluation of Chinese medicinal materials, and make a prospect of this study.

Key words: DNA molecular marker, biotechnology, traditional Chinese medicine, quality evaluation

Study on Pharmacokinetics of CBN Injection

—Study on Methodology of Pharmacokinetics of Plant Medicines

Du Lijun, Xing Dongming, Liu Meifeng and Ding yi (Laboratory of Pharmacy and Pharmacology, Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084)

Sun Hong, Yan Bin, He Xihui, Jin Wen and Sun Lihong (Institute of Medicinal Plants, Chinese