

国产和进口银杏叶片中萜类内酯的比较

张富赓^{1,2}, 刘振国³, 刘昌孝^{4*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津市环湖医院 药剂科, 天津 300060

3. 天津药物研究院药业有限责任公司, 天津 300193

4. 天津药物研究院药代动力学与药效动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: **目的** 比较常用的国产与进口银杏叶片中所含萜类内酯, 以保证临床用药的有效性。**方法:** 采用 Ultimate 3000 高效液相色谱仪结合蒸发光散射检测器, Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以正丙醇-四氢呋喃-水 (1:15:84) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 漂移管温度 115 °C, 压缩气体氮气体积流量为 3.00 L/min, 检测国产和进口 2 种银杏叶片各 3 批所含银杏内酯 A、B、C 和白果内酯的量, 并计算内酯总量。**结果** 2 种银杏叶片每片所含银杏内酯 A、B、C 和白果内酯分别为 (1.29±0.05)、(0.69±0.05)、(0.83±0.17)、(0.45±0.09) mg, (0.45±0.05)、(0.46±0.02)、(1.38±0.15)、(1.26±0.06) mg, 内酯总量分别为 (3.95±0.11)、(2.87±0.22) mg。**结论** 2 种银杏叶片所含萜类内酯的量均符合中国药典的规定, 其中二者所含银杏内酯 C 和白果内酯的量相似, 但国产银杏叶片所含银杏内酯 A、B 的量以及内酯总量明显高于进口银杏叶片。

关键词: 银杏叶片; 萜类内酯; 定量测定; HPLC-ELSD

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2011)01-0035-04

Comparison of triterpene lactones between domestic and imported *Ginkgo biloba* Tablets

ZHANG Fu-geng^{1,2}, LIU Zhen-guo³, LIU Chang-xiao⁴

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Department of Pharmacy, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Pharmaceutical Responsible Co., Ltd., Tianjin 300193, China

4. The State Key Laboratories of Pharmacodynamics and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective Comparing the contents of triterpene lactones in two kinds (domestic and imported) of *Ginkgo biloba* Tablets commonly used in the hospital, so as to ensure the clinical efficacy. **Methods** An HPLC-ELSD method was employed to determine the contents of ginkgolide A, B, C, bilobalide and the total triterpene lactones in three lots of Chinese and imported *Ginkgo biloba* Tablets. The analysis was performed on Zorbax SB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with *n*-propanol - tetrahydrofuran - water (1:15:84) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The drift tube temperature of the ELSD Detector was 115 °C and the evaporative gas was nitrogen at speed of 3.00 L/min. **Results** The contents of ginkgolide A, B, C, and bilobalide in three lots of domestic and imported *Ginkgo biloba* Tablets were (1.29±0.05), and (0.69±0.05); (0.83±0.17), and (0.45±0.09) mg; (0.45±0.05), and (0.46±0.02), (1.38±0.15), and (1.26±0.06) mg per tablet; The total contents of lactones were (3.95±0.11) and (2.87±0.22) mg, respectively. **Conclusion** Contents of terpene lactones in domestic and imported *Ginkgo biloba* Tablets are both qualified in accordance with *Pharmacopoeia of People's Republic of China*; And the two kinds of tablets have similar contents of ginkgolide C and bilobalide, but the contents of ginkgolide A, B and total terpene lactones in domestic *Ginkgo biloba* Tablet are obviously more than those in imported *Ginkgo biloba* Tablet.

Key words: *Ginkgo biloba* Tablet; terpene lactones; quantitative determination; HPLC-ELSD

收稿日期: 2010-08-05

基金项目: 国家 973 资助项目 (2005CB523400)

作者简介: 张富赓, 博士研究生, 研究方向为临床药学, 药代动力学。E-mail: zhfg2006@yahoo.cn

*通讯作者 刘昌孝, 中国工程院院士。Tel: (022)23006863 E-mail: liuchangxiao@vip.163.com

银杏叶为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶, 将银杏叶加工制成提取物后可制成多种制剂。随着提取工艺的标准化和药理活性研究的深入, 银杏叶提取物制剂已成为当今改善脑及末梢血液循环障碍的理想药物。银杏叶片由于药物吸收好, 生物利用度高且服用方便, 已在临床广泛使用。银杏中萜类内酯是其主要的药效物质^[1], 为此笔者检测了国产与进口 2 种银杏叶片中所含萜类内酯的量, 并对这 2 种银杏叶片所含银杏内酯 A、B、C、白果内酯以及内酯总量的情况进行比较, 以保证临床疗效。

1 仪器和试剂

Ultimate 3000 高效液相色谱仪, 包括 ACC—3000 全自动进样器, TCC—3000 柱温箱, Alltech 2000 ES 蒸发光检测器 (美国 DIONEX 公司); Milli—Q Academic 水纯化系统 (美国 Millipore 公司)。

甲醇、正丙醇、四氢呋喃、醋酸乙酯、醋酸钠 (分析纯, 天津化学试剂厂); 甲醇 (色谱纯, 天津康科德科技有限公司); 银杏内酯 A、B、C 和白果内酯对照品购自中国药品生物制品检定所, (批号分别为 110862-200608、110863-200508、110864-200304、110865-200404); 国产银杏叶片 (规格: 每片含银杏叶提取物 40 mg, 批号 09040801, 09091301, 09070801); 进口银杏叶片 (每片含银杏叶提取物 40 mg, 批号 9830808, 0131208, 0240209)。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为正丙醇-四氢呋喃-水 (1:15:84), 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 蒸发光散射检测器条件: 漂移管温度 115 °C, 压缩气体氮气流量为 3.00 L/min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取银杏内酯 A、B、C 和白果内酯对照品, 加甲醇制成含银杏内酯 A 1.002 mg/mL、银杏内酯 B 0.980 mg/mL、银杏内酯 C 0.490 mg/mL 和白果内酯 0.998 mg/mL 的对照品混合溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取 20 片, 除去包衣, 精密称定后研细, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 以甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 20 mL, 回收甲醇, 残渣加水 10 mL, 置水浴中温热使溶散, 加 2% 盐酸溶液 2 滴,

用醋酸乙酯振摇提取 4 次 (15、10、10、10 mL), 合并提取液, 用 5% 醋酸钠溶液 20 mL 洗涤, 分取醋酸钠溶液, 用醋酸乙酯 10 mL 洗涤。合并醋酸乙酯液提取液, 用水洗涤 2 次, 每次 20 mL, 合并水液, 用醋酸乙酯 10 mL 洗涤, 合并醋酸乙酯液, 回收至干, 残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 测定方法

采用《中国药典》规定的外标两点法^[2], 分别将混合对照品溶液 5、20 μL 和各供试品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算萜类酯量。

3 结果

混合对照品溶液和供试品溶液的液相色谱图如图 1 所示。将峰面积积分值及对应的质量浓度均取自然对数后, 用外标两点法对数方程计算国产和进口各 3 批次银杏叶片所含银杏内酯 A、B、C 和白果内酯的量, 并计算内酯总量, 结果见表 1。比较国产和进口 3 批次银杏叶片中所含银杏内酯 A、B、C、白果内酯和内酯总量, 结果见表 2。

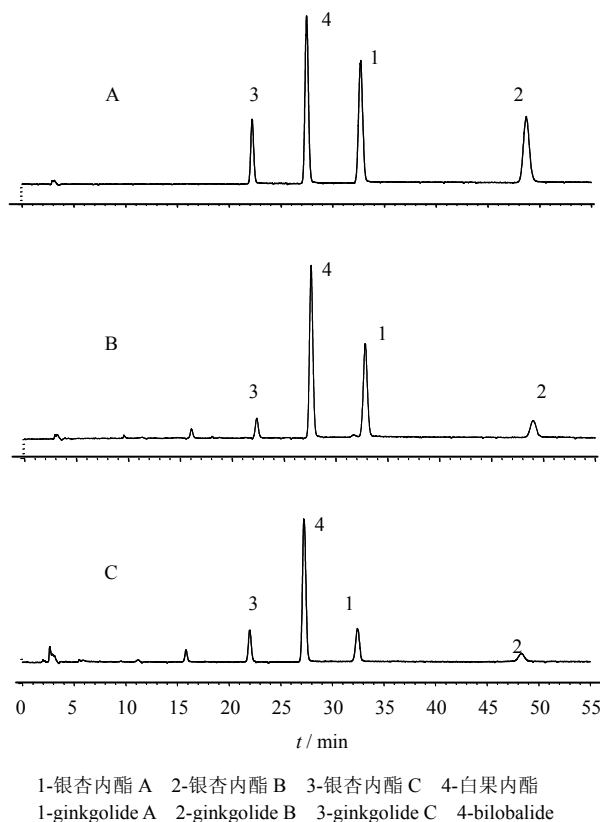


图 1 对照品 (A)、国产银杏叶片 (B) 和进口银杏叶片 (C) 的高效液相色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance (A), domestic *G. biloba* Tablet sample (B), and imported *G. biloba* Tablets sample (C) by HPLC

表1 国产与进口银杏叶片萜类内酯的量

Table 1 Contents of triterpene lactones in three lots of domestic and imported *G. biloba* Tablets

药品	药品批号	萜类内酯量/(mg·片 ⁻¹)				
		银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C	白果内酯	内酯总量
国产	09040801	1.24	0.78	0.42	1.42	3.86
	09091301	1.34	1.01	0.51	1.21	4.07
	09070801	1.29	0.69	0.43	1.50	3.91
进口	9830808	0.75	0.55	0.48	1.30	3.08
	0131208	0.65	0.36	0.44	1.20	2.65
	0240209	0.68	0.45	0.46	1.29	2.88

表2 国产与进口银杏叶片萜类内酯量的比较

Table 2 Contents comparison of triterpene lactones in three lots of domestic and imported *G. biloba* Tablets

药品	银杏内酯 A	萜类内酯量/(mg·片 ⁻¹)			
		银杏内酯 B	银杏内酯 C	白果内酯	内酯总量
国产	1.29±0.05	0.83±0.17	0.45±0.05	1.38±0.15	3.95±0.11
进口	0.69±0.05	0.45±0.09	0.46±0.02	1.26±0.06	2.87±0.22

4 讨论

银杏在中国的药典中称白果,我国和西方国家将银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* extract, GBE)制成多种制剂。药理研究表明^[1,3-6]银杏中所含萜类内酯成分是其主要的临床药效活性物质,具有多种药理活性,包括调节外周血管,拮抗血小板激活因子(platelet-activating factor, PAF),抑制血小板聚集和血栓形成,抑制自由基对细胞膜的损害,调节各种炎性细胞产生的炎性反应,增加血流以及神经保护作用等。目前银杏叶是提取银杏萜类内酯化合物的主要工业生产来源,银杏萜内酯的提取分离方法较多^[5,7],因此控制银杏叶提取物制剂中萜类内酯的量是保证药品质量的关键。目前国际上标准的银杏提取物系按 Schwabe 专利工艺生产的 EGB 761,其内酯总量须达到提取物的 6%以上。据此笔者比较了国产与进口 2 种银杏叶片各 3 个批次中所含萜类内酯的量,并结合《中国药典》2010 年版对银杏叶片中萜类内酯量的规定,即萜类内酯的量以每片中含银杏内酯 A、银杏内酯 B、银杏内酯 C 和白果内酯的总量计,40 mg 规格的片剂不得少于 2.4 mg,进行药物的定量评价。

由于银杏中萜类内酯的分子结构中没有强的生色团,紫外吸收很弱,在低波段有很弱的吸收,容易受到银杏叶提取物中其他成分的干扰,因此《中国药典》2005 年版规定采用高效液相色谱结合蒸发

光散射检测器,笔者利用此法对天津市环湖医院常用的国产与进口 2 种银杏叶片各 3 批次所含萜类内酯的量进行检测,该方法灵密度高、分辨率好、重复性强。检测的结果显示 2 种银杏叶片各批次所含萜类内酯的量均符合《中国药典》2005 年版的规定,其中二者所含银杏内酯 C 和白果内酯的量相似,但国产银杏叶片所含银杏内酯 A、B 的量以及内酯总量明显高于进口银杏叶片。

目前已知 PAF 具有广泛的生物学活性,与许多疾病的发生发展密切相关,而银杏内酯是 PAF 天然的特异性受体拮抗剂,特别是银杏内酯 B 被认为是其中最强大的 PAF 受体拮抗剂^[6-7]而受到广泛关注,中国已将银杏内酯 B 研制为国家 I 类新药注射剂^[8]。因此 2 种片剂在银杏内酯 A、B 的量上的差异是否会导致其在临床药效以及生物等效性方面的差异,值得进一步的研究。

参考文献

- [1] Mauri P, Palma A D, Pozzi F, et al. LC-MS characterization of terpene lactones in plasma of experimental animals treated with *Ginkgo biloba* extracts correlation with pharmacological activity [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40: 763-768.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [3] 王桂英, 高英梅, 郝玉杰等. 银杏叶提取物药理作用的研究进展 [J]. 河北中医, 2009, 31(6): 944-946.
- [4] Venkatesh A B, Ulrike G, Glaudia K, et al.

- Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products [J]. *Phytomed*, 2002, 9(supp): 1-33.
- [5] 何 珺, 何照范, 张勇民, 等. DA201 型大孔吸附树脂分离银杏叶提取物中银杏内酯 A、B、C 和白果内酯的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(12): 1359-1360.
- [6] 王 旋, 顾振纶, 秦振红, 等. 银杏内酯 A 和 B 混合物对大鼠永久性局灶性脑缺血的保护作用 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 241-244.
- [7] 苏 静, 谈 锋, 李连强, 等. 高速逆流色谱法分离纯化银杏叶中白果内酯和银杏内酯 A、B、C [J]. 中草药, 2008, 39(11): 1644-1648.
- [8] Filippo D, Maria L F, Melina C, *et al.* Pharmacokinetics and bioavailability of a Ginkgo biloba extract [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2002, 18(2): 197-203.
- [9] Lü H, Wang G J, Li H, *et al.* Sensitive and selective liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry analysis of ginkgolide B in dog plasma [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40: 88-94.
- [10] 李国信, 夏素霞, 刘胜利, 等. 银杏内酯 B 注射液在健康人体的药代动力学 [J]. 中国临床药理学杂志, 2008, 24(2): 118-121.

欢迎订阅 *Chinese Herbal Medicines* (CHM)

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines* (CHM) (中草药英文版) 经国家新闻出版总署 (新出综合[2008]1343 号文件) 批准, 国内统一连续出版号为: CN12—1410/R, 已于 2009 年 10 月正式创刊。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

办刊宗旨 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

主要栏目 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

读者对象 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍 (第一届编辑委员会由 49 位专家组成, 其中院士 11 名, 国外编委 19 名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引 (SCI), 把 CHM 办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅! 自办发行, 直接与编辑部订阅!

Chinese Herbal Medicines (CHM) 编辑部

天津编辑部

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

邮编: 300193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: 022-27474913

Fax: 022-23006821

Website: www.tiprpress.com

北京编辑部

地址: 北京市海淀区马连洼北路 151 号

邮编: 100193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: 010-62818235

Fax: 010-62894462

Website: www.tiprpress.com