

- study [J]. *Inf J Pharmacol*, 2000, 32(1): 34-36.
- [12] Moiham A H, Amala R. Antidiabetic and hypocholesterolaemic effects of fenugreek [J]. *Phytother Res*, 1998, 12(2): 233-242.
- [13] Udayasekara Rao P, Sesikeran B, Srinivasa Rao S, et al. Short term nutritional and safety evaluation of fenugreek [J]. *Nutr Res*, 1996, 16(9): 1495-1505.
- [14] Evans A J, Hood R L, Oakenfull D G, et al. Relationship between structure and function of dietary fibre: A comparative study of the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat [J]. *Br J Nutr*, 1992, 68(2): 217-219.

银杏叶提取物制剂研究概况

谢燕, 张钧寿*

(中国药科大学药学院 药剂学教研室, 江苏 南京 210009)

银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* L. extract, GbE)是从银杏科银杏属植物银杏的干燥叶中提取纯化而成的一种淡黄色粉状物质,具有改善心脑血管循环、保护肝脏、改善记忆、抗炎、抗过敏、提高机体免疫功能等作用,由于其疗效显著、副作用低,现已成为欧美及世界各地治疗老年疾病的畅销产品。而我国拥有全世界70%的银杏资源,对于开发利用银杏叶提取物的各种制剂具有得天独厚的优势。本文对银杏叶提取物的活性成分、制剂研究、体内药动学研究状况作一综述。

1 GbE的活性成分

银杏叶提取物的化学成分较为复杂,已发现有160多种化学成分,但黄酮类化合物、萜类内酯、聚异戊烯醇类被认为是主要活性成分,银杏酚酸(简称银杏酸)为主要毒性成分。其中黄酮类化合物主要以黄酮苷的形式存在,具有清除自由基的作用;萜类化合物为强效血小板活化因子(PAF)拮抗剂,两者是银杏叶提取物中的重要有效成分。GbE中银杏黄酮和银杏内酯的量受银杏树成长环境、树龄、采集时间^[1]等因素的影响较大,目前尚无统一的质量标准,国际上公认的银杏叶制剂质控标准是Swache公司1991年的专利^[2]EGb761标准,即总黄酮>24%,总内酯>6%(其中银杏内酯2.5%~4.5%,白果内酯2.0%~4.0%),同时限定银杏酸水平在5 μg/mL以下。

2 GbE的制剂研究

随着制剂新技术与中药现代化的相互渗透,银杏叶制剂已从传统的口服液、颗粒剂,经历了片剂、胶囊剂、注射剂等普通制剂的发展历程,目前已进入了缓控释、靶向制剂的新阶段。

2.1 GbE普通制剂:GbE的普通制剂种类繁多,由于生产工艺简单,成本低廉,深受广大患者欢迎,但在生产、贮存过程中仍出现很多问题,因此,有学者在剂型设计和工艺改进方面做了大量工作,并取得一定进展。

王鑫波对银杏叶口服液的提取工艺进行了优化,制得口服液澄明度较好^[3]。钱学群^[4]研究了银杏叶经提取、浓缩、干燥、填充等制备胶囊的工艺和质量方法,所得胶囊口服后在

胃内溶解快,一般3~10 min即能释放药物,易吸收、奏效快,且可掩盖药物的苦味。还有报道^[5]将银杏叶提取物溶解在聚乙二醇400中制成软胶囊,具有崩解后有效成分迅速溶出,起效快等特点。

危华玲^[6]针对银杏叶片所存在的崩解问题,在处方中引入适量的高效崩解剂低取代羟丙基纤维素(L-HPC),并在此基础上优化处方组成,改善了银杏叶片的崩解和成型,同时易于包衣。由于银杏叶提取物易受潮吸湿,通常将素片包糖衣,但在储存过程中发现其糖衣片仍然具有强吸湿性,并且容易裂片,产生色斑。刘振涛^[7]通过崩解、耐温湿试验,比较薄膜包衣及糖衣对银杏叶片理化性质的影响,结果肯定了采用薄膜包衣的优点,并用正交试验确定了薄膜包衣的最佳工艺。Oschmann^[8]研制GbE泡腾片时,减少处方中酸的用量,并加入生理可接受的表面活性剂,得到的水溶液澄清且pH为6~8,克服了银杏叶提取物在水溶液中的稳定性问题。

GbE注射剂产品主要有金纳多注射液(德国)、舒血宁注射液(北京第四制药厂)等,刘洁等^[9]自制的GbE注射剂与金纳多注射液相比,均能明显改善急性脑梗塞患者肢体运动功能($P<0.05$),显著降低血浆血栓素 B_2 水平($P<0.05$),明显提高6-K-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 水平($P<0.05$),可见两者疗效相仿。为提高中药注射剂的安全性和有效性,巴卫松等^[10]将银杏叶提取物再提取制备高纯度GbE注射液,可定量成分达到国家药监局对中药注射剂的要求(>50%),与金纳多注射液相比,所含银杏黄酮成倍提高,萜内酯的量也有所提高,并通过动物实验表明,高纯度银杏黄酮注射液和“金纳多”均能提高记忆力,改善家兔血液流变学,保护缺血再灌注组织,且同剂量下该注射液作用优于“金纳多”。游松等^[11]以芦丁为内标,采用HPLC法分析银杏黄酮苷,建立了银杏叶药材、中间体及注射剂中间体的指纹图谱,为银杏叶提取物注射剂的质量控制奠定了基础。

2.2 GbE新型制剂:近年来,为了提高病人服药顺应性,降低不良反应,适应不同患者的需要,出现了许多银杏叶提取物的新型制剂,主要有缓释片、缓释胶囊、舌下片、口腔崩解

收稿日期:2005-02-18

作者简介:谢燕(1978—),女,中国药科大学在读硕士研究生,研究方向为药物新制剂与新剂型。

Tel:(025)85339694 E-mail:rosexie_1996@hotmail.com

*通讯作者 张钧寿

片、咀嚼片、分散片、速释滴丸。

GbE 普通片剂服用剂量大,难以持续维持有效血药浓度,而缓释制剂能降低服药剂量,减少血药浓度波动。吕红等^[12]研制了可持续 12 h 起效的银杏叶缓释片,并与普通片进行了体外释药动力学的比较,普通片为一级释放,缓释片在 2~12 h 为零级释放,且缓释片释放 50% 的时间为普通片的 2 倍,可在较长时间维持有效治疗浓度,较普通片更为安全、有效。银杏总内酯为银杏叶提取物的主要活性成分,刘清飞等^[13]自制了银杏总内酯控释小丸,以期维持平稳的血药浓度,初步研究结果表明,稳定性良好。有报道^[14],将 GbE 制成颗粒后,包一层半渗透膜,体外实验表明能满足 12 h 缓释的要求,且稳定性较未包衣颗粒大大提高。

上官新晨等^[15]以阿拉伯胶和 β -环糊精为囊材,通过喷雾干燥的方法将 GbE 微囊化,以解决银杏黄酮难溶于水及强烈苦味的问题。GbE 微囊化后,可提高体内、体外的稳定性,保持有效成分抗氧化活性,并使其缓慢释放。由于微囊化技术具有提高药物生物相容性、缓释的特点,可以考虑将其应用于 GbE 非肠道的缓释和靶向给药系统。

为掩盖 GbE 的苦味,叶兵等^[16]以明胶、甘露醇和阿司帕坦为矫味剂,研制了银杏叶口腔崩解片,该制剂口感好,无沙砾感,在口腔内能迅速崩解,便于病人在无水及不能吞咽情况下服用,提高病人顺应性;也有将 GbE 制成咀嚼片,利于口腔粘膜及消化道迅速吸收,以防治心、脑血管疾病;在处方中加入 5%~30% 片质量的崩解剂将 GbE 制成分散片,可口服或加水分散后吞服、也可咀嚼或含吮服用,其中的水难溶性成分和易溶性成分均可迅速被分散,从而被机体迅速吸收。

速释制剂具有使 GbE 活性成分迅速吸收、起效快、方便使用的特点,尤其适用于急救状况,具有一定的应用前景。针对银杏叶口服固体制剂普遍存在的溶出速率慢等缺点,葛月宾等研制了 GbE 速释滴丸,所得制剂丸重差异小,所含成分量均匀,由于活性成分能以分子状态存在于聚乙二醇(PEG)载体材料中,PEG 可阻止已分散的药物再聚集粗化,因此能明显提高有效成分的溶出,改善其吸收。

2.3 制剂新技术的应用与展望,根据银杏叶提取物主要活性成分的理化性质,采用制剂新技术以提高其有效成分的生物利用度,增加药物吸收,从而使得制剂疗效显著。

溶解度是影响药物在体内有效吸收的主要因素之一,蒋永红等选择几种非离子表面活性剂进行银杏叶提取物的增溶实验,结果表明聚山梨酯-80 增溶作用最强,使银杏叶提取物在水溶液中的溶解度提高 10 倍,可用于口服液和注射液的制备。杨怡静等^[19]认为, GbE 本身是一种水溶性较好的物质,但由于溶解过程中,溶解孔道易被提取物中非有效部位所形成的胶稠状物堵塞,使得片剂溶出速度慢,于是采用固体分散体技术提高溶出,并制得 GbE-PEG-6000 固体分散体,有效提高了片剂的溶出。由此可见,运用制剂技术提高 GbE 在水溶液中的有效分散可望促进活性成分的吸收,也可尝试包合技术提高溶解度。

GbE 的活性成分黄酮类化合物的脂水分配系数(HLB)

小,不能顺利的通过细胞膜被机体吸收,卵磷脂为体内细胞膜的基本组成物质,与细胞膜的亲和力强,以它为载体可以适当增大脂水分配系数而使黄酮类化合物容易透过细胞的脂质膜,从而改善吸收。王坚苗等^[18]考察了相同总黄酮剂量的杏灵颗粒、银杏酮酯卵磷脂复合物、银杏卵磷脂混合物对脑缺血损伤的保护作用,结果为卵磷脂复合物作用最强。欧洲也有报道,将 GbE 与大豆卵磷脂溶于恰当的溶剂中,再挥干溶剂并称所得复合物的活性远大于 GbE,可制成片剂、胶囊、乳剂、凝胶剂等。

由于 HLB 较高的表面活性剂既能增加银杏叶提取物在水中的溶解性,又能降低肠黏膜类脂质的屏蔽作用而增加吸收,有研究人员^[19]用 HLB>12 的表面活性剂和半固体骨架载体(聚氧乙烯山梨醇酐硬脂酸酯或泊洛沙姆)制成了一种银杏叶提取物半固体骨架制剂,以该半固体骨架为内容物的胶囊体外溶出是市售胶囊的 3 倍,具有服用剂量低、吸收快和生物利用度高的特点。何仲贵等^[20]研制了银杏叶提取物的自微乳化给药系统,由于活性成分可存在于细小的油滴内,快速分布于整个胃肠道中,依靠细小油滴的巨大表面积大大提高水不溶性成分的溶出,从而提高生物利用度,压制成软胶囊后疗效得到显著提高。

银杏叶提取物化学成分复杂,既含有水溶性较好的黄酮醇苷类成分,又含有脂溶性较好的萜类内酯,而脂质体具有可同时包裹亲脂性、水溶性成分,并可携带药物进入体内后定向分布的特点,有学者从事了 GbE 脂质体的研究,国外已有口服银杏叶提取物脂质体上市,用于保护老年人的心脑血管。Yamamoto 等^[21]将银杏叶提取物用二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱和聚山梨酯-20 以超声法包裹制成混合脂质体,具有较强抗肿瘤细胞 B-16 黑素瘤的活性,而未包裹的提取物抗肿瘤活性很低;由于制备过程中没有用到任何毒性有机溶剂,使得脂质体给药系统的安全性提高,且对正常组织无细胞毒性。

已确定的 GbE 活性成分中,由于理化性质不同,从而导致吸收机制差异较大,目前制剂研究中主要存在的问题是促进 GbE 有效成分的吸收,已有学者采取增加溶解度、改变与细胞膜的相容性、将有效成分包裹穿透生物膜等制剂新技术克服上述问题,取得初步成效,相信随着制剂新技术的不断应用会使 GbE 制剂的安全性、有效性达到一个更高的层次。

3 GbE 的药动学研究

3.1 银杏黄酮的药动学研究:目前还没有文献报道研究银杏提取物中银杏黄酮的吸收,但对银杏黄酮中各单体,尤其是槲皮素及其苷研究较多,基本认为银杏黄酮需在体内水解成苷元后才能被机体吸收而产生疗效。Murota 认为,尽管槲皮素苷在大肠经水解后易于被吸收,但小肠仍然为槲皮素苷吸收的有效部位,因为小肠可水解苷并且其葡萄糖转运系统也能参与苷的吸收。有报道称,槲皮素吸收后主要分布于肠道,其次是肺和血浆,其血浆蛋白结合率较高。但槲皮素在体内的分布还相当复杂,需进一步深入研究。银杏黄酮可被肠道内细菌以及肠道黏膜上皮细胞内存在的一些酶类转化为各种代谢产物,然后由肠道吸收、转化或排出。Breinholt^[22]

认为,细胞色素 1A2(CYP1A2)为参与黄酮生物转化的主要代谢酶,主要作用位点有 3'-,4'-和 B 环上,3'-位羟基化后,山奈酚便代谢成槲皮素。O'Leary^[23]发现,多药耐药蛋白与槲皮素的结合物在从 HepG2 肝细胞泵出过程中起着重要作用;银杏黄酮还可在血液中与血浆蛋白等结合,从而转化为可被机体排出的物质。黄酮类化合物在体内排泄途径主要为肾脏排泄和胆汁排泄。Wang^[24]给健康受试者口服银杏叶片后,收集尿样,水解处理后用 HPLC 检测槲皮素和山奈酚的浓度,并与未水解的尿样相比,得出结论,槲皮素和山奈酚在体内主要以葡萄糖苷酸的形式从尿液中排泄,且山奈酚比槲皮素的排泄速度快。

3.2 银杏内酯的药动学研究:Fourtillan 对健康人口服银杏叶提取物后,收集血样和尿样测定药动学参数,禁食后银杏内酯 A、B 的消除半衰期分别为 4.50、10.57 h,平均滞留时间(MRT)分别为 5.86、11.25 h,与不禁食给药相比,AUC 不变,但 T_{max} 增加,杨赴云等^[25]通过 GC-MS 测定银杏内酯血药浓度,对银杏内酯 A、B 在健康人体内药物代谢动力学进行了研究,得出银杏内酯 A、B 在人体内 $t_{1/2}$ 分别为 3.73、4.25 h,AUC 值分别为 68 305.10、19 714.69 ng/(min · mL),且代谢均符合二室模型。

4 结语

对于应用前景广阔的银杏叶提取物,弄清楚的成分只有不到 50%,而对其体内药动学过程以及作用机制则更无确切的诊断,这大大制约了银杏叶提取物制剂的研究进展。从目前市场需求状况来看,不管在医药领域还是美容、保健食品领域,银杏叶提取物的市场前景都很广阔,但由于其有效成分的结构特点,不易穿透胃肠黏膜被机体吸收,使得大多银杏叶提取物制剂生物利用度低。因此,有必要深入探讨银杏叶提取物的各活性成分及其体内过程,以期在此基础上运用制剂新技术提高其生物利用度。

References:

- [1] Leng P S, Wang T H. Reasonal changes of flavonol glycosides and terpene lactone contents of *Ginkgo biloba* [J]. *J Plant Res Envir* (植物资源和环境学报), 2001, 10(3): 15-18.
- [2] Schwabe Klaus-Peter. Extract from *Ginkgo biloba* leaves, its method of preparation and pharmaceuticals containing the extract [P]. DE: 3940092, 1991-06-06.
- [3] Wang X B. Optimized formulation on *Ginkgo biloba* leaf Oral Solution [J]. *China Pharm* (中国药业), 2003, 7: 51.
- [4] Qian X Q, Zhong J M. Study on preparing procedure and quality of ginkgo leaf capsule [J]. *J Med Pharm Chin Minorit* (中国民族民间医药杂志), 2003, 63: 246-248.
- [5] Zhang Y Z, Zhou Y Q. Determination of terpenelactones in Yinxingye Soft Capsule by HPLC-ELSD [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 22-24.
- [6] Wei H L, Chi P C. Optimization of the formula of Ginkgo Flavone Tablets [J]. *J China Pharm* (中国药房), 2002, 13(1): 21-23.
- [7] Liu Z T, Jin C. Studies on production process of film coating of Yinxingye Tablets [J]. *Hebei J Ind Sci Tech* (河北工业科技), 2004, 21(3): 29-30.
- [8] Rainer O. Effervescent composition with dry extract of *Ginkgo biloba* [P]. US: 6399099, 1997-09-17.
- [9] Liu J, Feng X P. Effects of extract of *Ginkgo biloba* (EGB) Injection of lin b-kinetic functions, TXB₂, and 6-K-PGF_{1α} in acute cerebral infarction cases [J]. *Zhejiang J Integrated Tradit Chin West Med* (浙江中西医结合杂志), 2001, 11(1): 9-11.
- [10] Ba W S, Li L P. Quality studies on high content ginkgo flavone glycoside Injection [J]. *J Hebei Med Coll Contin Educ* (河北职工医学院学报), 2003, 20(3): 1-3.
- [11] You S, Wang L. Studies on fingerprint of Ginkgo Leaves Injection [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 216-218.
- [12] Lü H, Liu Y Q. The preparation of the leaves of *Ginkgo biloba* slowed release tablets and the knetics of out body release drug [J]. *J Wuhan Inst Chem Tech* (武汉化工学院学报), 2000, 22(1): 7-9.
- [13] Liu Q F, Zhou L L. Study of stability on controlled release pellets of Ginkgolides [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(5): 349-352.
- [14] Yoav B. Microencapsulated and controlled-release herbal formulations [P]. US: 6340478, 2002-01-22.
- [15] Shangguan X C, Chen J P. Microencapsulation of the extracts from *Ginkgo* leaves [J]. *Transact Chin Society Agric Eng* (农业工程学报), 2003, 19(6): 227-230.
- [16] Ye B, Liu Z R. Preparation and evaluation quality of folium ginkgo orally disintegrating tablets [J]. *Nat Prod Res Deve* (天然产物研究与开发), 2003, 15(4): 326-329.
- [17] Yang Y J, Ping Q N. Improvement of the dissolution rate of *Ginkgo biloba* tablets by using solid dispersion methods [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2004, 13(6): 521-524.
- [18] Wang J M, Yi L S. Protective effect of complex EGB on cerebral ischemic damage [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床药理), 2002, 13(5): 291-293.
- [19] Gu J L, Shen H X. A complex of semi-solid matrix formulation of *Ginkgo biloba* extract [P]. CN: 1446585A, 2003-10-08.
- [20] He Z G, Tang J L. Preparation of Self-emulsifying Soft Capsule of *Ginkgo biloba* extract [P]. CN: 1457776A, 2003-11-26.
- [21] Yamamoto S, Nakano K. Enhanced inhibitory effects of extracts from *Ginkgo biloba* L. leaves encapsulated in hybrid liposomes on the growth of tumor cells *in vitro* [J]. *Biochem Eng J*, 2002, 12: 125-130.
- [22] Breinholt V M, Offord E A. *In vitro* investigation of cytochrome P450-mediated metabolism of dietary flavonoids [J]. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40: 609-616.
- [23] O'Leary Karen A, Day A J. Metabolism of quercetin-7-and quercetin-3-glucuronides by an *in vitro* hepatic model; the role of human β -glucuronidase, sulfotransferase, catechol-O-methyltransferase and multi-resistant protein 2 (MRP2) in flavonoid metabolism [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 65: 479-491.
- [24] Wang F M, Yao T W. Determination of quercetin and kaempferol in human urine after orally administrated tablet of *Ginkgo biloba* extract by HPLC [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 33: 317-321.
- [25] Yang F Y, Wang J T. Study on the pharmacokinetics of ginkgolides in 10 volunteers [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2001, 36(9): 616-618.