

树龄、采收期和干燥方法对银杏叶中总内酯的影响

周恩丽^{1,2}, 李雪峰^{1,2}, 王伟^{1,2}, 尚强^{1,2}, 陆艳芹^{1,2}, 田恒勇^{1,2}, 萧伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 对银杏叶中总内酯进行研究, 为银杏叶资源的合理利用提供科学依据。方法 采用 HPLC-ELSD 法测定不同树龄、采收季节和干燥方法的银杏叶中总内酯。结果 树龄小于 10 年, 5~7 月采收, 干燥方法为晒干的银杏叶中总内酯含量较高。结论 银杏叶中总内酯的含量受树龄、采收季节和干燥方法的影响, 应合理采收银杏叶, 保护银杏叶资源。

关键词: 银杏叶; 总内酯; 采收期; 干燥方法; HPLC-ELSD

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2012)04-0380-03

Effects of different tree ages, harvest seasons, and drying methods on total lactones in *Ginkgo biloba* leaves

ZHOU En-li^{1,2}, LI Xue-feng^{1,2}, WANG Wei^{1,2}, SHANG Qiang^{1,2}, LU Yan-qin^{1,2}, TIAN Heng-yong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To determine the total lactones in *Ginkgo biloba* leaves and provide the scientific basis for the rational utilization of *G. biloba* leaves resources. **Methods** HPLC-ELSD method was used to determine the total lactones in *G. biloba* leaves at different tree ages, in different harvest seasons, and by various drying methods. **Results** The highest content of the total lactone was observed in the leaves at tree age of no more than 10 years, collected from May to July, and drying under the sun. **Conclusion** The contents of the total lactones in *G. biloba* leaves are affected by tree ages, harvest seasons, and dry methods, so *G. biloba* leaves should be collected reasonably to protect their resources.

Key words: the leaves of *Ginkgo biloba* L.; total lactones; harvest seasons; drying methods; HPLC-ELSD

银杏叶为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶, 其提取物中的有效成分黄酮苷和萜内酯具有极高的药用价值。银杏总内酯为萜类内酯类化合物, 包括银杏内酯 A、B、C 和白果内酯, 是主要的活性成分^[1], 具有抗血小板活化因子^[2]、保护中枢神经系统、对缺血损伤的逆转保护等作用, 对抗血小板凝聚, 抗老年痴呆症也有明显的功效。已有对不同采收期银杏叶中总酸的变化进行研究^[3]。为了更加明确影响药材质量的因素, 控制药材中的有效成分, 保证药材质量稳定, 本实验对不同采收标准下的银杏叶药材中总内酯进行了比较研究, 采用 HPLC-ELSD 法测定银杏总内酯, 探讨了树龄、采收季节和干燥方法对银杏叶质量的影响, 为银杏叶

的合理采收和质量控制提供科学依据。

1 仪器与材料

Waters 2695 高效液相色谱仪、Waters 2420 蒸发光检测器 (美国 Waters 公司)。

银杏内酯 A、B、C 和白果内酯对照品 (中国药品生物制品检定所, 供定量测定用, 批号依次为 110862-200608、110863-200508、110864-200304、110865-200404); 甲醇、四氢呋喃 (色谱纯, 美国天地有限公司), 石油醚 (30~60 °C) (南京化学试剂有限公司) 等其他试剂均为分析纯。

银杏叶样品采自银杏叶 GAP 邳州示范基地, 经本公司质量标准研究中心鉴定为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶。

收稿日期: 2012-04-11

基金项目: 国家重大新药创制专项 (2011ZX09401-097)

作者简介: 周恩丽, 工程师, 从事新药工艺研究工作。Tel: (0518) 85521936 E-mail: zeL315@sina.com

*通讯作者 萧伟, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 从事创新中药的开发与研究。Tel: (0518) 85521956 E-mail: kanionxw2010@126.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

ODS 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为水-甲醇-四氢呋喃 (70:20:10) [4], 体积流量 1 mL/min, 柱温 30 ℃; 蒸发光散射检测器漂移管温度 65 ℃, 雾化器温度 37 ℃, 氮气压力 137.9 kPa。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取银杏内酯 A、B、C 和白果内酯对照品适量, 加 50% 甲醇制成 0.18、0.08、0.10、0.20 mg/mL 的混合溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备^[5-6]

取银杏叶中粉 1.5 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加石油醚在水浴上回流提取 1 h, 弃去石油醚液,

药渣和滤纸筒置于烘箱中挥干溶剂, 再加甲醇回流提取 6 h, 提取液蒸干, 残渣加甲醇溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 超声处理 (功率 300 W, 频率 50 kHz) 30 min, 取出放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 静置。精密量取上清液 5 mL, 置酸性氧化铝柱 (200~300 目, 3 g, 内径 1 cm, 甲醇湿法装柱) 上, 用甲醇 25 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣用甲醇 5 mL 分次转移至 10 mL 量瓶中, 加水适量, 超声处理 (功率 300 W, 频率 50 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.4 测定法

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 用外标两点法分别计算, 即得。色谱图见图 1。

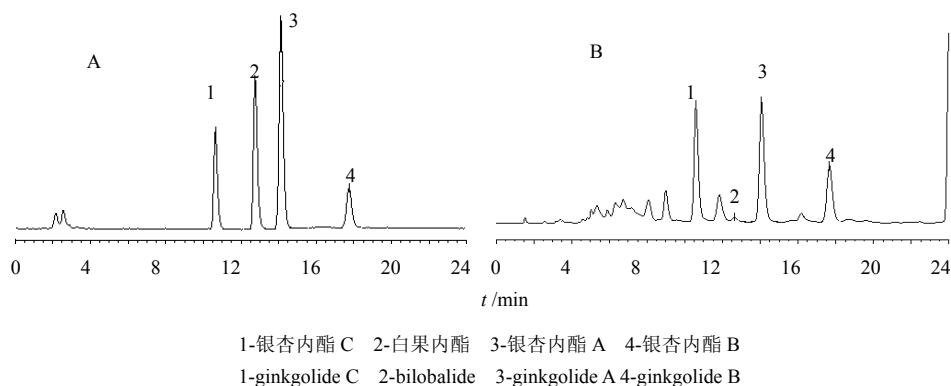


图 1 混合对照品 (A) 和银杏叶样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *G. biloba* leaves (B)

2.5 树龄对银杏叶总内酯的影响

取采收期为 6 月 15 日、烘干法干燥、不同树龄的银杏叶, 测定总内酯, 结果见表 1。可见树龄是银杏叶中总内酯含量的关键因素, 树龄小于 10

年的银杏叶总内酯的含量较高, 达到 0.30% 以上, 符合《中国药典》2010 年版中规定的 0.25% 的要求, 树龄超过 10 年的银杏叶总内酯的含量逐渐降低, 低于《中国药典》2010 年版标准, 不符合药用要求。

表 1 不同树龄银杏叶中总内酯的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of total lactones in *G. biloba* leaves at different tree ages (n=3)

树龄/年	银杏内酯 C/%	白果内酯/%	银杏内酯 A/%	银杏内酯 B/%	总内酯/%
4	0.06	0.28	0.14	0.06	0.54
5	0.05	0.27	0.10	0.08	0.50
6	0.05	0.25	0.11	0.07	0.48
7	0.05	0.25	0.11	0.05	0.46
8	0.10	0.19	0.13	0.07	0.49
9	0.15	0.13	0.12	0.13	0.53
10	0.08	0.20	0.15	0.07	0.50
11	0.03	0.08	0.04	0.02	0.17
12	0.03	0.06	0.04	0.02	0.15
13	0.03	0.07	0.03	0.02	0.15

2.6 采集日期对银杏叶总内酯的影响

取烘干法干燥、树龄为 10 年的银杏叶, 考察不同采集日期对银杏叶总内酯的影响, 测定结果

见表 2。可见银杏总内酯的含量随着采集日期不同而变化, 5~7 月采集的银杏叶中总内酯的含量较高。

表 2 不同采集日期银杏叶中总内酯的测定结果 (n=3)

Table 2 Determination of total lactones in *G. biloba* leaves in different harvest seasons (n=3)

采收日期	银杏内酯 C/%	白果内酯/%	银杏内酯 A/%	银杏内酯 B/%	总内酯/%
05-15	0.06	0.24	0.13	0.10	0.53
06-15	0.05	0.25	0.11	0.07	0.48
07-15	0.08	0.20	0.15	0.07	0.50
08-15	0.06	0.15	0.06	0.05	0.32
09-15	0.05	0.11	0.06	0.04	0.26
10-15	0.03	0.08	0.04	0.02	0.17

2.7 干燥方法对银杏总内酯的影响

取采收期为 6 月 15 日、树龄为 10 年的银杏叶, 不同树龄的银杏叶, 不同干燥方法对银杏叶总内酯

的影响见表 3, 可以看出晒干法明显优于烘干法, 对减少银杏叶总内酯的含量损失、提高银杏叶质量具有一定的作用。

表 3 不同干燥方法的银杏叶中总内酯测定结果 (n=3)

Table 3 Determination of total lactones in *G. biloba* leaves by various drying methods (n=3)

干燥方法	银杏内酯 C/%	白果内酯/%	银杏内酯 A/%	银杏内酯 B/%	总内酯/%
烘干 (60 °C, 4 h)	0.05	0.26	0.10	0.07	0.48
晒干 (28 °C, 8 h)	0.06	0.27	0.11	0.08	0.52

3 讨论

中药材品种繁多, 成分复杂, 必须建立健全的药材质量控制体系, 规范药材生产的各个环节, 才能推进中药的标准化、现代化和产业化进程, 促进中药材的开发利用, 使其更好地应用于临床。

实验比较了不同树龄、采收期和药材干燥方法对银杏叶中总内酯含量的影响, 可以看出树龄和采收期是影响银杏叶药材质量的主要因素, 可将其作为采收银杏叶的质量控制标准, 以达到药材采收的最优化。

参考文献

[1] Braquet P. The ginkgolides: potent platelet activating

factorantagonists isolated from *Ginkgo biloba* L. [J]. *Drugs Fut*, 1987, 12(7): 643-688.

[2] 龚晓健, 李运曼, 卞惠敏, 等. 银杏总内酯抗血小板聚集与抗血栓作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(7): 822-825.

[3] 鞠建明, 沈红, 钱士辉, 等. 不同生长季节银杏叶中总银杏酸的动态变化研究 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 305-307.

[4] 陆晓峰, 彭国平, 金灯萍. 银杏叶内酯成分的指纹图谱研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(4): 460-462.

[5] 张富赓, 刘振国, 刘昌孝. 国产和进口银杏叶片中萜类内酯的比较 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(1): 35-38.

[6] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 296.