

类 PAF和白三烯类拮抗剂

另外,在紫苏子中还发现了另一类具有抑制白三烯和组胺的多元酚类抗过敏物质(另文报道),即白三烯类拮抗剂和抗组胺剂。这两大类成分复盖了三大介质,即白三烯、PAF及组胺。

过敏介质拮抗剂类药被认为在5大类抗过敏药中是最有开发价值的。故此,我们确定对紫苏子中脂肪酸类和多元酚类进行新药开发立项研究,现已取得了阶段性成果,希望能预期研制开发出对I型和IV型变态反应均有效而无毒的新型抗过敏药,用于治疗花粉症、特异性皮炎、过敏性湿疹、鼻炎、支气管哮喘、休克、荨麻疹、枯草热及抗药物过敏。

参考文献:

[1] 王永奇,吕琳,杨明,等. n-3系列脂肪酸的研究进展[J]. 特种经济动植物(国外), 1993, (2): 28-31.  
 [2] 王永奇,赵宇峰,李曼杰,等. 食用油与慢性疾病[J]. 长白山中医药研究与开发, 1993, 2(2): 56-59.  
 [3] 王永奇,赵宇峰,李曼杰,等. 食用油与脑及视力[J]. 长白山中医药研究与开发, 1994, 3(4): 48-51.  
 [4] 王永奇,王威,刘继华,等. 浅谈新的脂肪营养理论[J]. 中草药, 1996, (增刊): 29-31.  
 [5] 王永奇,赵宇峰,李曼杰,等. 具有强智健视作用的紫苏油的研究[M]. 桂林: 中国老年保健医学研究会会编, 1993.  
 [6] 王永奇,王威,刘继华,等. ω-3系列脂肪酸植物资源的筛选、研究及开发利用[M]. 承德: 中药新药研究与开发信息交流会

会编, 1996.  
 [7] 王永奇,王威,刘继华,等. 紫苏油的研究[M]. 海南: 中国老年保健医学研究会会编, 1996.  
 [8] 王永奇,王威,刘继华,等. 国际源于动植物三系列脂肪酸前沿研究领域新动态[J]. 中草药, 1999, (增刊): 30-33.  
 [9] 王永奇. 富α-亚麻酸油资源筛选、基础及临床研究[M]. 名古屋: 日中学术交流会特别演讲, 1998.  
 [10] 中国药典[S]. 1990年版. 一部.  
 [11] 王永奇,赵宇峰,李曼杰,等. 紫苏子的化学成分[J]. 中草药, 1995, 26(5): 236-238.  
 [12] 王永奇,李曼杰,冷玲,等. α-亚麻酸含量与品种及生态环境关系的研究[J]. 长白山中医药研究与开发, 1994, 3(4): 9-10.  
 [13] Sakai K, Ueno K, Ogawa Y, et al. Fatty acid composition of plasma lipids in young atopic patients [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34: 2914-2949.  
 [14] Honi T, Satouchi K, Kobayashi Y, et al. Effect of dietary α-linolenat on platelet-activating factor production in rat peritoneal polymorphonuclear leukocytes [J]. J Immunol, 1991, 147: 1607-1613.  
 [15] Vanabe M E, Olson S C, Nieto M L, et al. Zzymatic studies of lyso platelet-activating factor acylation in human neutrophils and changes upon stimulation [J]. J Biol Chem, 1993, 268: 7965-7975.  
 [16] Sugiura T, Fukuda T, Masuzawa Y, et al. Ether lysophospholipid-induced production of platelet-activating in human polymorphonuclear leukocytes [J]. Biochem Biophys Acta, 1990, 1047: 223-232.

## 银杏制剂中烷基酚酸类成分研究进展

陆瑾,许忻,宗志敏,魏贤勇  
 (中国矿业大学化工学院,江苏 徐州 221008)

摘要: 系统介绍了银杏制剂中烷基酚酸类成分在化学结构、提取分离方法、检测方法和药理作用等方面的研究进展,为建立该类物质在制剂中的限量标准以及在抗菌消炎等方面的临床应用提供了科学的依据。

关键词: 银杏; 烷基酚酸; 毒理学; 药理学

中图分类号: R284; R285 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0085-03

### Progress in studies on alkylphenolic acids in *Ginkgo biloba* preparation

LU Jin, XU Xin, ZONG Zhi-min, WEI Xian-yong

(College of Chemical Engineering, China University of Mining and Technology, Xuzhou Jiangsu 221008, China)

**Key words** *Ginkgo biloba* L.; alkylphenolic acids; toxicology, pharmacology

银杏 *Ginkgo biloba* L. 系侏罗纪的子遗植物。鉴于该植物在治疗心脑血管疾病及老年痴呆症等方面的独特疗效,进入80年代以来,银杏叶的开发研究热潮风靡全球,其提取物已广泛应用于药品、保健品和化妆品<sup>[1-3]</sup>。

银杏制剂质量的好坏直接影响到患者的安全和疗效,通常主要从疗效和安全性的角度来考察和评价银杏制剂的质量。银杏制剂中含有的烷基酚酸等致敏物质毒性较大,应尽量除去。目前国际上公认的EGb质量标准规定烷基酚酸类

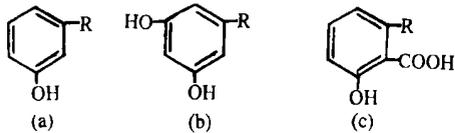
物质含量不得高于  $5\mu\text{g/g}$ <sup>[4]</sup>。国内不少制剂厂对该含量没有控制,甚至高达  $1700\mu\text{g/g}$  以上<sup>[5]</sup>都没能引起足够重视;且目前有较大影响的有关银杏制剂质量的综述都未提及银杏叶中有毒成分含量的测定方法,合理的限量标准及毒理学研究。

已有研究表明<sup>[6-10]</sup>,银杏酚酸类对某些病种有一定的治疗作用,因为运用辩证法的观点,对毒性成分来说,其本身就是一种生理活性的体现。笔者对银杏制剂中烷基酚酸类成分

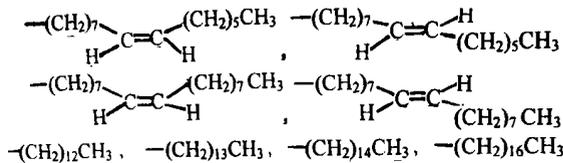
的性质和作用等作一介绍。

1 化学成分

银杏外种皮、果肉及叶中均含有烷基酚和烷基酚酸类,属漆树酸类化合物,这些成分与致过敏、致突变有关,文献报道了烷基酚类过敏源问题。该类化合物包括白果酸(ginkgolic acid)、氢化白果酸(hydroginkgolic acid)、氢化白果亚酸(ginkgolinic acid)、白果酚(ginkgol)和银杏酚(bilobal)等<sup>[11]</sup>,常见结构如图1所示。该类型化合物主要溶于非极性溶剂,溶解性质比较接近脂肪酸,难溶于低级醇类,不溶于水,可溶于碱性水溶液。



其中R多为:



a, b分别为烷基取代的苯酚和间苯二酚衍生物, c为烷基取代的水杨酸衍生物

图1 烷基酚酸类成分结构图

图1的化合物代表了银杏的主要有毒物质,而且在银杏果实中分布最多,是过多食用白果造成中毒的主要成分,也是银杏叶在长期服用时的致敏性成分。除去白果中的烷基酚酸类可采用“炒”的方法,因烷基酚酸在较高温度下能挥发掉,可防止食用时中毒。

2 分离检测方法

丙酮和乙醇的水溶液常用于萃取银杏中的有机成分,前者可以较好地提取黄酮苷类及萜内酯类以及原萜雀苷类,而后者可较容易地将致敏物质烷基酚酸类成分提取出来<sup>[12-14]</sup>。EGb761的标准规定长碳链水杨酸类衍生物的含量不得高于  $5\mu\text{g/g}$ ,德国 Schwabe 药厂 1991年专利提出白果酚不高于  $10\mu\text{g/g}$ <sup>[4]</sup>,该专利报道了银杏酸的去除及达到  $10\mu\text{g/g}$  以下的质量规格。具体方法为: 100 kg 干叶粉加 750 kg 60% 丙酮于  $57^\circ\text{C} \sim 59^\circ\text{C}$  下强烈搅拌 30 min 后离心过滤,如此提取 2 次,滤液减压浓缩到 30%~40%,丙酮含量 5% 以下(干浸膏含银杏酸  $13\text{g/kg}$ );加 2 倍量水稀释,  $12^\circ\text{C}$  冷却,离心除去沉淀,滤液(干浸膏含银杏酸  $320\mu\text{g/g}$ )加 30% 量的硫酸铵,以丁酮-丙酮(6:4~1:1)液液萃取,萃取液浓缩至 50%~70%,加水稀释到含干物质 10% 的溶液,以其一半体积的正丁醇提取,正丁醇层减压浓缩至含干物质 50%,再恒沸蒸馏,所得水液加水 and 乙醇至含干浸膏 10%,含乙醇量 30%。以其 1/3 体积的正己烷脱脂,水层减压浓缩干燥,得含水量低于 5% 的 EGb 2.7 kg,其中黄酮苷 2%~26%,银杏内酯 2%~4.5%,白果内酯 2.0%~4.0%,烷基酚酸  $10\mu\text{g/g}$  以下(特别可达到  $1\mu\text{g/g}$  以下),原花青素

5%。

Hideji<sup>[15]</sup>将外种皮粗粉以甲醇提取,加适量水用氯仿萃取,萃取物分别经硅胶柱(氯仿-甲醇,9:1)和氧化铝柱(苯-醋酸乙酯,1:1)处理,硅胶柱处理后再经 ODS 柱洗脱得 3 种酸性成分,氧化铝柱处理后经 ODS 柱精制得总银杏酚和总白果酚。

赵成林<sup>[16]</sup>对外种皮中酸性成分的提取进行了探讨,将粉碎的银杏外种皮在室温下用乙醚提取回流 3 次,提取液浓缩回收溶剂,而后以 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  水溶液分 4 次从乙醚中抽提,水层用稀盐酸中和,再用乙醚从水层抽提,乙醚干燥蒸发后得褐色油状物,即为银杏外种皮总酸性成分。经柱层析,甲醇-醋酸洗脱,分离出 3 种 6-链烯基十五碳水杨酸。

检测方法有用正己烷萃取或者超临界  $\text{CO}_2$  萃取后 HPLC 分离,UV 254 nm 检测;或是用 HPLC 检测,用作定性分析。但液相色谱的灵敏度低,只能用作半定量分析。因此有人用 GC-MS 分析,但样品需经硅烷化处理,操作步骤较繁琐<sup>[17,18]</sup>。Gellerman 报道<sup>[19]</sup>用 GC 分析其酯,用作含量测定,这是一种较为简便易行的方法。陈仲良等发现用 TLC 法与对照品混合银杏酸比较能被用于银杏酸的限量分析<sup>[5]</sup>。意大利人采用超临界  $\text{CO}_2$  萃取,毛细管 GC-MS 脱机分析,用于分离和鉴别有毒酚性化合物<sup>[20]</sup>。

3 毒理学研究

3.1 白果:元朝吴瑞在《日用本草》中记载:“多食壅气动风,小儿多食昏霍,发惊引疳”。明朝李时珍在《本草纲目》中指出:“银杏……食多则收令太过,令人气壅肺胀昏顿”。这与近代临床研究资料是一致的。婴儿连食 10 枚左右核仁即可死亡;3~7 岁儿童连食 10~50 枚即可引起中毒,有的可发生严重中毒甚至死亡;成人连食 20~300 枚即可引起中毒。给小鼠用药后,出现惊厥症状,继而延髓麻痹,呼吸、心跳停止而死亡。白果的肉质外种皮中含有银杏毒,能引起皮炎,该毒性物质还可从皮肤吸收,通过肠与肾排泄,引起胃肠炎和肾炎,并有溶血作用<sup>[11]</sup>。其中毒机制目前尚不清楚,一般认为与损害中枢神经系统有关。

3.2 银杏叶:银杏叶提取物的  $\text{LD}_{50}$ ,静脉给药为  $(1202.5 \pm 141.3)\mu\text{g/g}$ ,相当于生药  $(7.8 \pm 0.9)\text{g/kg}$ ;灌胃给药为  $(17.9 \pm 1.0)\text{g/kg}$ ,相当于生药  $(116.4 \pm 6.5)\text{g/kg}$ <sup>[17]</sup>。给狗注射临床常用量 10~40 倍的药物 1 周,出现恶心、呕吐、腹泻、食欲减退等现象,组织切片发现小肠粘膜分泌亢进,麻醉狗、家兔的肠蠕动增强,注射给药局部血管变硬<sup>[18]</sup>。

银杏叶制剂毒副作用较小,少数患者用药后有食欲减退、恶心、腹胀、口干及头晕等反应,但对血象、肝、肾功能无影响。

4 药理学研究

4.1 抗菌消炎作用:许丽丽报道<sup>[6]</sup>,银杏甲素(氢化白果酸)  $20\text{mg/kg}$  ip 对二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀,角叉菜胶所致的大鼠足肿胀,乙酸所致的小鼠腹腔毛细管通透性增高早期的炎性渗出性水肿及毛细管通透性增加,对完全福氏佐剂所致的免疫性炎症和棉球所致的肉芽组织增生均具有明显

的抑制作用。它与阳性对照药地塞米松作用相似。

杨世林等发现<sup>[7]</sup>: 银杏叶水煎液对金葡菌、痢疾杆菌及绿脓杆菌均有抑制作用,有效成分为接有不同侧链的漆树酸,可用于烧伤、烫伤、放射病等的急救。

4.2 抗过敏作用<sup>[8]</sup>: 银杏甲素(氢化白果酸) 20 mg/kg ip 对小鼠被动性皮肤过敏反应(PCA)、对大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒释放具有抑制作用;当浓度为 50, 100 μg/mL 时对抗原(卵白蛋白)诱发的致敏豚鼠回肠最大收缩反应有抑制作用,其抑制率为 52% ( $P < 0.01$ ) 和 76% ( $P < 0.01$ );当剂量在 50 μg/mL,  $P < 0.01$  时对过敏介质组胺(HA)和慢反应物质(SPS-A)所引起的豚鼠回肠收缩有拮抗作用。

4.3 抑制真菌作用: 徐立春研究表明<sup>[9]</sup>: 0.1% 银杏甲素抑制真菌生长有效率为 92% ( $P < 0.01$ ), 0.5% 克霉唑为 68% ( $P < 0.05$ ), 还发现银杏甲素抑制新隐球菌 A 使其不生长;抑制猪小孢子菌、新隐球菌 G 新隐球菌 E 副克柔氏念珠菌、克柔氏念珠菌等浅表和深部真菌均使其不生长;对许兰氏毛癣菌、奥杜盎氏小孢子菌、紫状表皮癣菌、伪热带念珠菌、热带念珠菌等亦有极明显的抑制作用。

楼凤昌等研究表明<sup>[10]</sup>: 白果酸对赤霉菌、镰孢霉菌、轮枝霉菌、根霉菌和疫霉菌均有不同程度的抑制作用,对赤霉菌、根霉菌和疫霉菌的作用优于多灵菌;不同浓度的白果酸对镰孢霉菌和轮枝霉菌的抑制率高于 80%, 而多灵菌对它们无效。

4.4 酶抑制作用<sup>[7]</sup>: 研究表明,银杏中的漆树酸为甘油-3-磷酸脱氢酶的抑制剂。

4.5 驱虫、杀虫作用: 白果外种皮中的酸性成分可替代农药防治蚜虫、蛴螬、菜青虫、红蜘蛛、桑螵、稻螟及其它咀嚼口器的昆虫,可减少化学农药的污染。

## 5 结束语

综上所述,银杏提取物在作为药品使用特别是制成食品时,为降低其毒副作用应尽快建立其限量标准,并通过严格炮制和检验,否则不可批量上市。应进一步对毒性成分进行研究,并加强在杀虫、抗菌等方面的临床应用,以提高银杏的综合利用价值。

参考文献:

- [1] Rapin J R, Yoa R G, Bouvier C, et al. Effects of repeated treatments with an extract of *Ginkgo biloba* (EGb 761) and bilobalide on liver and muscle glucogen contents in the non insulin development research [J]. Drug Dev Res, 1997, 40 (1): 68-74.
- [2] Imdronai M, Marcocci L. Peroxyl radica scavenging activity of *Ginkgo biloba* extract EGb 761 [J]. Biochem Pharmacol, 1995, 49(11): 1649-1655.
- [3] 李兆龙,胡季强,卢耀明. 银杏的开发利用[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1996.
- [4] Schwabe K P. Extracts from *Ginkgo biloba* leaves with high content of flavone glycosides and ginkgolides but with low alkylphenols content [P]. DE 3940092 A, 1991-06-06.
- [5] 陈仲良,殷梦龙,茅翔,等. 银杏提取物的化学成分和质量 [A]. 北京: '97银杏国际研讨会论文集 [C]. 1997: 89-91.
- [6] 许丽丽. 银杏甲素的抗炎作用 [J]. 扬州医学院学报, 1992, 4 (1): 19-21.
- [7] 杨世林,徐立珍,杜力军,等. 银杏研究概况及复方的研究 [A]. 北京: '97银杏国际研讨会论文集 [C]. 1997: 43-49.
- [8] 许丽丽. 银杏甲素的抗过敏药理作用 [J]. 中药药理与临床, 1990, 6(4): 35-37.
- [9] 徐立春. 银杏甲、乙素对真菌生长抑制效应研究 [J]. 中药材, 1990, 13(12): 40-42.
- [10] 楼凤昌,王国艳. 银杏外种皮的化学成分研究 [A]. 北京: 97银杏国际研讨会论文集 [C]. 1997: 73-83.
- [11] 周维书,黄振安,郑爱云. 银杏叶及其制剂 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1995.
- [12] Boral N. Ginkgolides chemistry, biology, pharmacology and clinical perspectives [M]. vol 1. J R prous science publishers, 1988.
- [13] K. H. 斯通弗. EGb761 的药物质量与提取物规范 [A]. 北京: '97银杏国际研讨会论文集 [C]. 1997: 20-28.
- [14] Feudis F. Pharmacological activities and clinical applications [M]. chapter 2 France Elsevier publishing house, 1991.
- [15] Hideji Itokawa. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(7): 3016-3020.
- [16] 赵成林. 银杏叶外种皮中酸性成分的提取与药用探讨 [J]. 中草药, 1997, 28(4): 250-251.
- [17] T. A. 万伯克. 银杏叶及其标准提取物的分析及质量控制 [A]. 北京: '97银杏国际研讨会论文集 [C]. 1997: 92-100.
- [18] 谢培山. 银杏叶标准提取物 EGb761 及银杏叶制剂的质量评价 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(1): 3-5.
- [19] Gellerman J L. Methods for isolation and determination of anacardic acids [J]. Anal Chem, 1968, 40(4): 739-743.
- [20] 谢培山. 银杏叶标准提取物 EGb761 及银杏叶制剂的质量评价 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(2): 116-118.

## 邮购信息

① 中华人民共和国药典(2000版,药典委编)670元;② 国内外药典(制剂)对照手册(药典委编)98元;③ 中药粉末显微鉴别彩色图谱(药典委编)248元;④ 中华本草(国家中医药管理局编,40卷 10册)2560元;⑤ 中药新制剂开发与应用(二版,谢秀琼编)86元;

执业药师资格考试复习指导:① 考试大纲(12元,共用);② 药事管理(20元,共用);③ 药事法规汇编(34元,共用);④ 药学综合知识与技能(31元,药学类);⑤ 药理学(40元,药学类);⑥ 药剂学(43元,药学类);⑦ 药物分析(43元,药学类);⑧ 药物化学(41元,药学类);⑨ 考试试题与解答(65元,药学类);⑩ 中药学综合知识与技能(42元,中药师用);⑪ 中药药剂学(36元,中药师用);⑫ 中药化学(34元,中药师用);⑬ 中药学(28元,中药师用);⑭ 中药鉴定学(28元,中药师用);⑮ 考试试题与解答(47元,中药师用);⑯ 全国执业药师资格考试应试习题集(谢惠民编)38元(药学类)

邮购办法:① 按书定价汇款,挂号发书,保证安全,发票随书寄。汇款时注明所购书名。

② 汇款地点: 邮编 300070 天津市和平区蛇口道同发里底商 11号,金卫医学书店收 电话: (022)23522444