

不同产地银杏叶中总银杏酸的含量比较

黄萍*

(江苏省中医药研究院, 南京 210028)

[摘要] 目的:比较不同产地银杏叶中总银杏酸的含量。方法:采用 HPLC 测定银杏叶中总银杏酸的含量。色谱条件为依利特 Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-1% 冰醋酸水溶液(90:10),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 310 nm,柱温 35 °C,进样量 20 μL,外标法计算含量。结果:各产地银杏叶中总银杏酸含量差异较大,山东郯城总银杏酸含量最高(2.38%),江苏邳州最低(1.28%)。结论:不同产地银杏叶中总银杏酸含量差异明显,应选择使用。

[关键词] 银杏叶; 总银杏酸; 产地

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)12-0129-03

[doi] 10.11653/syjf2013120129

Comparative Analysis of Total Ginkgolic Acids in *Ginkgo biloba* Leaves of Different Habitats

HUANG Ping*

(Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To study the change of total ginkgolic acids in *Ginkgo biloba* leaves of different habitats. **Method:** The content of total ginkgolic acids in *G. biloba* leaves was determined by HPLC. A Hypersil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and the mobile phase of methanol and 1% acetic acid (90:10) were used; the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the wavelength was set at 310 nm. The content was calculated with external standard method. **Result:** The content of total ginkgolic acids in *G. biloba* leaves varied with different habitats. The content in the samples from Tancheng was the highest, while Pizhou is the lowest. **Conclusion:** The content of total ginkgolic acids in *G. biloba* leaves from different habitats is markedly different. We should have a choice in use.

[Key words] *Ginkgo biloba* leaves; ginkgolic acids; habitats

银杏叶为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶,其提取物制剂具有扩张血管、改善脑循环、抑制血小板活化因子的作用^[1-5]。银杏叶除主要含有黄酮类和银杏内酯类成分外,还含有另一类具有重要活性的组分银杏酸^[6-8],具有致敏性、细胞毒性和免疫毒性等作用,是银杏叶提取物及其制剂中的主要毒性物质,对人类健康存在潜在危机,因此银杏酸的限量是评价银杏叶制剂质量的关键指标之一^[9]。

鞠建明等^[10-11]研究了不同树龄及生长季节银

杏叶中总银杏酸的动态变化规律,但主要产地银杏叶中总银杏酸的含量尚无报道。本研究首次分析了各主要产地银杏叶中总银杏酸的含量,为银杏叶的开发利用提供参考。

1 材料

Waters 2695 高效液相色谱仪(Alliance 2695 四元泵, Waters 2998 DAD 检测器, Empower 2 色谱工作站), Satorius BT 125D 型(1/10 万)电子分析天平(北京赛多利斯公司), KH 2200B 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司), EPED 纯水器(南京易普易达科技发展有限公司)。

白果新酸(批号 111690-200601)、总银杏酸(批号 111594-200602)均购于中国药品生物制品检定

[收稿日期] 20120718(006)

[通讯作者] *黄萍, 实习研究员, 从事药物分析研究, E-mail:

huangpinghappy@126.com

所, 甲醇(江苏汉邦科技有限公司)为色谱纯, 水为超纯水(自制), 其他试剂均为分析纯。

银杏叶样品采自山东、江苏、广西等 11 个省市, 采集时间, 2010 年 8 月, 树龄为 5 年, 具体产地信息见表 1。

表 1 银杏叶样品采集信息表

No.	来源	No.	来源
1	山东郯城	7	河南洛阳
2	安徽临国	8	广州南雄
3	湖北安陆	9	湖南永州
4	广西灵川	10	江苏泰兴
5	河北石家庄	11	江苏邳州
6	辽宁丹东		

2 方法与结果

2.1 色谱条件 依利特 Hypersil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-1% 冰醋酸水溶液 (90:10), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 310 nm, 柱温 35 °C, 进样量 20 μL, 外标法计算含量。在所拟色谱条件下, 银杏叶中主要的 5 种银杏酸得到了较好的分离, 见图 1。

2.2 溶液制备

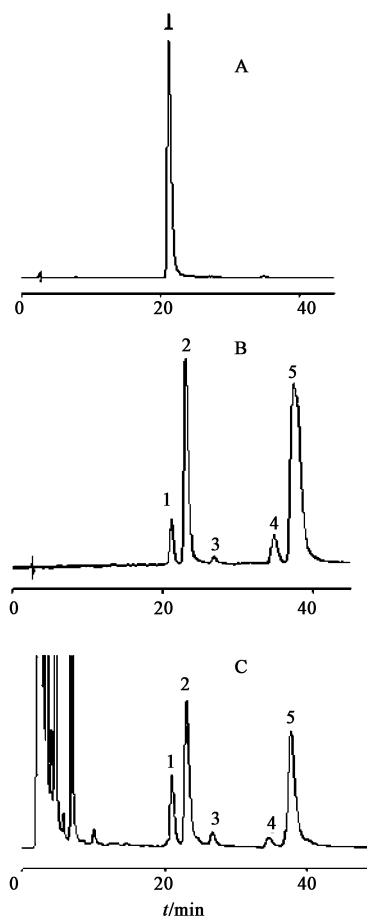
2.2.1 供试品溶液的制备 取银杏叶粉末约 1.0 g 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 闭塞, 称重, 超声处理 45 min, 取出, 冷却, 称重, 以甲醇补足减失的质量, 摇匀, 先用滤纸过滤, 然后用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取白果新酸对照品适量, 加甲醇制成 1 mL 含 0.164 0 mg 作为对照品溶液。另取总银杏酸对照品适量, 作为定位用对照溶液。

2.3 白果新酸线性关系考察 精密吸取白果新酸对照品溶液 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0 μL, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以对照品进样量 (μg) 为横坐标 (X), 峰面积积分为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 回归方程 $Y = 5.28 \times 10^5 X - 5.13 \times 10^4$ ($r = 0.9999$), 白果新酸在 0.164 ~ 5.248 μg 线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取同一对照品 20 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件重复测定 6 次, 测定对照品的峰面积, 计算其 RSD 0.91%, 表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验 分别取同一批银杏叶 1 g 共 6 份, 精密称定, 按供试品制备方法制备供试品溶液,



A. 白果新酸对照品; B. 总银杏酸对照品;
C. 样品; 1~5 种银杏酸; 1. 为白果新酸

图 1 银杏叶提取物 HPLC

依法测定。结果白果新酸和总银杏酸含量分别为 0.26%, 2.38%, RSD 分别为 1.63%, 1.78%, 表明本方法重复性较好。

2.6 稳定性试验 取重复性试验中的一份供试品溶液, 分别于 0, 4, 8, 12, 24 h 注入液相色谱仪, 以峰面积考察其稳定性。结果白果新酸和总银杏酸 RSD 分别为 0.96%, 0.76%, 表明供试品在 24 h 内稳定性较好。

2.7 回收率试验 取已知含量的样品 (银杏叶粉末中白果心酸含量为 2.380 mg · g⁻¹) 6 份, 每份约 0.5 g 精密称定, 按照供试品溶液的制备方法处理并按上述条件测定, 计算平均回收率和 RSD, 见表 2。

2.8 样品含量测定 上述建立的方法应用于银杏叶总银杏酸的分析。按供试品制备方法制备供试品溶液, 精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪, 测定计算供试品溶液中与总银杏酸对照品相应色谱峰的总峰面积, 以白果新酸对照品外标法计算总银杏酸含量, 见表 3。

表2 白果新酸加样回收率试验

样品质量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	均值 /%	RSD /%
0.502 1	1.194	1.195	2.375	98.8		
0.503 6	1.198	1.195	2.372	98.2		
0.500 7	1.191	1.195	2.398	101	98.8	1.1
0.502 8	1.196	1.195	2.371	98.3		
0.501 4	1.193	1.195	2.375	98.9		
0.506 1	1.204	1.195	2.373	97.8		

表3 不同产地银杏叶样品中总银杏酸质量分数($n=3$)

银杏叶产地	总银杏酸 质量分数/%	银杏叶产地	总银杏酸 质量分数/%
山东郯城	2.41	河南洛阳	1.64
安徽临国	2.21	广州南雄	1.56
湖北安陆	2.09	湖南永州	1.51
广西灵川	1.97	江苏泰州	1.45
河北石家庄	1.87	江苏邳州	1.38
辽宁丹东	1.81		

3 讨论

由表3可见,不同产地银杏叶总银杏酸含量差异较大,所分析11个主要产地样品中总银杏酸含量在1.28~2.38%,山东郯城总银杏酸含量最高(2.41%),江苏邳州最低(1.38%)。银杏酸是银杏叶的毒性成分,总银杏酸含量低的银杏叶是否可以作为银杏叶提取物的优质原料,还要结合银杏叶中总黄酮和总内酯的含量,以活性成分含量高,总银杏酸含量低的银杏叶作为优质银杏叶原料。

根据银杏酸的理化性质,在供试品制备过程中,比较了纯甲醇、80%甲醇2种提取溶剂对总银杏酸的提取率,结果显示纯甲醇的提取率较高,故确定提

取溶剂为纯甲醇。实验中还对超声时间进行了考察,结果表明,超声45 min提取率优于超声30,60 min,因此选择超声时间为45 min。

[参考文献]

- [1] 张现涛,梁军,刘红霞,等.银杏叶内酯N对实验性大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):141.
- [2] 王存良.银杏叶提取物对肾性高血压大鼠血压及其靶器官脂质过氧化的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(18):146.
- [3] 刘亚锋,潘苏华.复方银杏叶制剂对肝损伤防护作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):181.
- [4] 夏晓晖,张宇,郝砚彬,等.银杏叶化学成分研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(9):100.
- [5] 张华军,万茜,徐天舒.银杏叶提取物对 $A\beta$ 诱导神经毒性的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):209.
- [6] 刘平平,潘苏华.银杏叶制剂中银杏酚酸研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(3):274.
- [7] 刘欣,党娅,耿敬章.银杏酸的药理活性及应用研究进展[J].中国西部科技,2012,11(2):32.
- [8] 聂黎行,鲁静.银杏叶提取物中总银杏酸的HPLC法限量检查[J].药物分析杂志,2005,25(8):909.
- [9] 杨榴青,吴向阳,杨克迪,等.银杏酸分析方法研究进展[J].药物分析杂志,2003,23(3):41.
- [10] 鞠建明,黄一平,钱士辉,等.不同树龄银杏叶在不同季节中总银杏酸的动态变化规律[J].中国中药杂志,2009,34(7):817.
- [11] 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):257.

[责任编辑 顾雪竹]