

· 药学基础 ·

银杏叶片及银杏叶胶囊的质量分析及建议

刘丽娜, 金红宇*, 李耀磊, 许玮仪, 王莹, 咎珂, 马双成*
(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

[摘要] 目的:比较目前市场上不同厂家的银杏叶片及银杏叶胶囊样品,对质量差异进行分析,并对二者的质量标准提高和市场监管提出建议。方法:按照2015年版《中国药典》(一部)银杏叶片及银杏叶胶囊含量测定项方法测定了银杏叶片及银杏叶胶囊中总黄酮醇苷及萜类内酯的含量,按照国家药品监督管理局发布的银杏叶片及银杏叶胶囊相关补充检验方法,对银杏叶片及银杏叶胶囊中游离黄酮(槲皮素、山柰素、异鼠李素)及槐角苷检查项进行了测定,并对48家企业生产的328批银杏叶片及银杏叶胶囊的总黄酮醇苷、萜类内酯含量测定项以及游离黄酮、槐角苷检查项进行分析,比较不同批次及不同厂家银杏叶制剂的质量差异。结果:328批银杏叶片及银杏叶胶囊质量均符合标准规定,但总黄酮醇苷及萜类内酯含量分布范围均较宽,不同企业间样品质量差异较大。结论:建议各企业对工艺进行优化,对原材料进行严格控制,以保证样品的批间一致性。

[关键词] 银杏叶片; 银杏叶胶囊; 质量评价; 萜类内酯; 槐角苷; 游离黄酮; 黄酮醇苷

[中图分类号] R22;R9;R28;S792.95 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)01-0147-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201750

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200609.0855.001.html>

[网络出版日期] 2020-6-9 10:54

Quality Analysis and Suggestion for Ginkgo Folium Tablets and Ginkgo Folium Capsules

LIU Li-na, JIN Hong-yu*, LI Yao-lei, XU Wei-yi, WANG Ying, ZAN Ke, MA Shuang-cheng*
(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** To conduct quality evaluation of Ginkgo Folium preparations by analyzing the national evaluation sampling test results, analyze the quality differences, and put forward suggestions for the improvement of quality standards and market supervision. **Method:** The contents of total flavonol glycosides and terpene lactones in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules were determined according to the methods of determination in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia* (the first volume), and the contents of free flavonoids (quercetin, kaempferide and isorhamnetin) and sophoricoside in Ginkgo Folium preparations were determined according to related supplementary testing method of Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules issued by National Medical Products Administration. The quality differences of Ginkgo Folium preparations from different batches and different manufacturers were compared according to the contents of total flavonol glycosides, terpene lactones, free flavonoids and sophoricoside in 328 batches of Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules manufactured by 48 enterprises. **Result:** Quality of 328 batches of Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules was in accordance with the standard, but the contents of terpene lactones and total flavonol glycosides were all distributed in a wide range, and the quality of samples varied greatly among different enterprises. **Conclusion:** It is recommended that each enterprise should optimize the production

[收稿日期] 20200331(004)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09303-024)

[第一作者] 刘丽娜, 硕士, 助理研究员, 从事中药、天然药质量控制及有害残留物分析研究, Tel:010-67095424, E-mail:kllln@163.com

[通信作者] * 马双成, 博士生导师, 研究员, 从事中药民族药质量控制与评价研究, Tel:010-67095272, E-mail:masc@nifdc.org.cn;

* 金红宇, 硕士生导师, 主任药师, 从事中药天然药物质量控制研究, E-mail:jhyu@nifdc.org.cn

process and strictly control the raw materials to ensure the consistency between different batches of samples.

[Key words] Ginkgo Folium tablets; Ginkgo Folium capsules; quality evaluation; terpene lactones; sophoricoside; free flavonoids; flavonol glycosides

银杏叶系列制剂是临床重要的心脑血管用药,是以银杏叶提取物为原料,加适宜辅料制成的,包括银杏叶片(含分散片)和银杏叶胶囊、银杏叶颗粒、银杏叶滴剂、银杏叶滴丸、银杏叶酊、银杏叶口服液、银杏露、银杏叶软胶囊、银杏酮酯片、银杏酮酯滴剂、银杏茶颗粒、舒血宁注射液等十几种,目前市场上银杏叶类药品以银杏叶片、银杏叶胶囊为主。2015年5月至2016年4月,原国家食品药品监督管理总局(现国家药品监督管理局,以下简称国家局)开展了银杏叶药品专项治理工作,打击药品造假和行业潜规则。中国食品药品检定研究院中药民族药检定所以风险控制科学理论为指导,全程参加该项工作,起到重要技术支撑作用,完成补充检验方法9项,有效控制了药品风险^[1-2]。此次国家药品评价性抽验是对2015年专项治理工作的回顾,同时了解当前银杏叶产品质量情况。

德国植物药企业威玛舒培博士药厂(Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co. KG)于1965年研制出银杏叶提取物,定名为EGb761,其成分包括黄酮(24%)和萜类内酯(6%),这也被认为是黄金配比,质量标准一直被沿用至今,而威玛舒培生产的金纳多则为银杏叶制剂的“金标准”。此次评价性抽验工作,通过分析检验结果,对银杏叶制剂的质量进行评价,比较国产银杏叶制剂与银杏叶制剂“金标准”之间的质量差异,以期对相关制剂的监督管理和质量标准提高提供参考,同时,希望相关企业对自身产品质量状况有更全面的认识和了解,持续改进和提高产品质量。

1 检验项目和检验依据

银杏叶片、银杏叶胶囊现行标准收载于2015年版《中国药典》一部^[3],此外,国家局于2015年发布了银杏叶片及银杏叶胶囊的补充检验方法,分别为《银杏叶提取物、银杏叶片、银杏叶胶囊中游离槲皮素、山柰素、异鼠李素检查项补充检验方法》(2015001)和《银杏叶提取物、银杏叶片及银杏叶胶囊中槐角苷检查项补充检验方法》(2015007)。此次评价性抽验主要涉及4个项目,分别为总黄酮醇苷及萜类内酯含量测定、游离槲皮素、山柰素、异鼠李素和槐角苷的补充检验方法检查项。

银杏叶片及银杏叶胶囊均以银杏叶提取物为

原料。按照相关法规,银杏叶提取物目前实施备案管理。2015年版《中国药典》收载的银杏叶片包括糖衣片、薄膜衣片,包括2种规格,分别为①每片含总黄酮醇苷9.6 mg,萜类内酯2.4 mg(规格1);②每片含总黄酮醇苷19.2 mg,萜类内酯4.8 mg(规格2)。银杏叶胶囊包括3种规格,分别为①每粒含总黄酮醇苷9.6 mg,萜类内酯2.4 mg(规格1);②每粒含总黄酮醇苷19.2 mg,萜类内酯4.8 mg(规格2)。③每粒装0.25 g(含有总黄酮醇苷质量40 mg和萜类内酯质量10 mg)(规格3)。

2 抽样情况

2019年国家评价性抽验共抽取328批次样品,涉及48家生产企业。其中银杏叶胶囊27批次,涉及8个生产企业(代码分别为A~H),占全国相关企业总数的89%;涉及8个批准文号,占全国相关批准文号总数的89%。银杏叶片共抽取301批次样品,涉及43家生产企业(代码分别为1~43),占全国相关企业总数的69%;涉及47个批准文号,占全国相关批准文号总数的63%。此次抽验地域覆盖全国31个省级行政区(不含香港、澳门、台湾),其中江苏抽验样品批次最多,达30批次。按照生产单位所属省份,银杏叶片生产企业覆盖全国19个省、自治区、直辖市,共43家,银杏叶胶囊生产企业覆盖全国7个省、自治区、直辖市,共8家。其中,有3家企业既有银杏叶片又有银杏叶胶囊,所以合计涉及48家企业。本文将银杏叶片及银杏叶胶囊2种不同剂型合并,按不同规格进行统计。328批样品按抽验来源进行统计,其中市场抽样242批,生产单位抽样86批,分别占抽样总数的74%和26%。

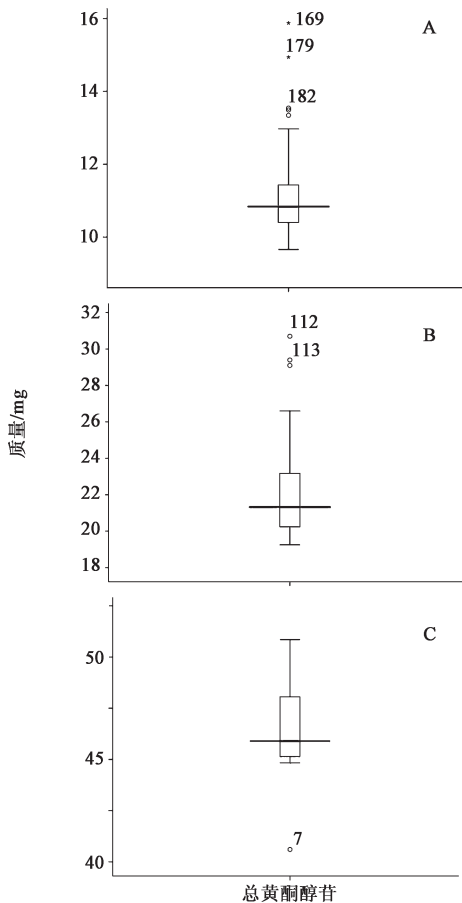
3 检验结果及分析

3.1 整体检验情况 全部328批样品按照2015年版《中国药典》(一部)银杏叶片及银杏叶胶囊含量测定项,《银杏叶提取物、银杏叶片、银杏叶胶囊中游离槲皮素、山柰素、异鼠李素检查项补充检验方法》(2015001)和《银杏叶提取物、银杏叶片及银杏叶胶囊中槐角苷检查项补充检验方法》(2015007)所载总黄酮醇苷含量测定项,萜类内酯含量测定项,游离槲皮素、山柰素、异鼠李素(以下简称游离黄酮)检查项及槐角苷检查项进行检测,结果发现328批样品总黄酮醇苷、萜类内酯、游离黄酮及槐角

苷项均符合规定,合格率100%。

3.2 分项检验结果与分析

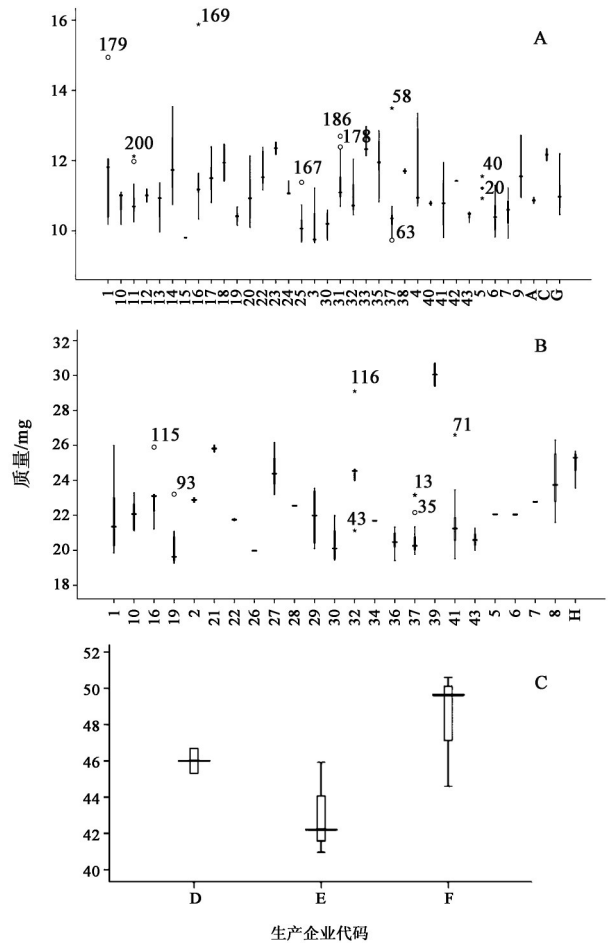
3.2.1 总黄酮醇苷 301批银杏叶片及27批银杏叶胶囊的总黄酮醇苷含量均符合规定,其分布箱式图见图1,不同生产企业样品中总黄酮醇苷质量的箱式比较见图2。结果发现总黄酮醇苷含量分布较宽,部分企业不同批次之间差别较大,质量均一性较差。国产制剂质量与银杏叶制剂“金标准”之间的比较见图3。结果发现此次国家评价性抽验的所有样品均符合2015年版《中国药典》的规定,但总黄酮醇苷含量分布范围较宽,仅有部分样品符合“金标准”规定。



A. 规格1; B. 规格2; C. 规格3(图2~7同); 质量的计量单位为每片或者每粒; 图中显示的数字表示样品编码(图2, 4, 5同)

图1 银杏叶片及银杏叶胶囊中总黄酮醇苷含量分布的箱式分析
Fig. 1 Box analysis of content distribution of total flavonol glycosides in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules

3.2.2 萜类内酯 301批银杏叶片及27批银杏叶胶囊的萜类内酯含量均符合规定,其分布箱式图见图4,不同生产企业样品中萜类内酯质量的箱式比较见图5。结果发现萜类内酯含量分布较宽,部分企业不同批次之间差别较大,质量均一性较差。201



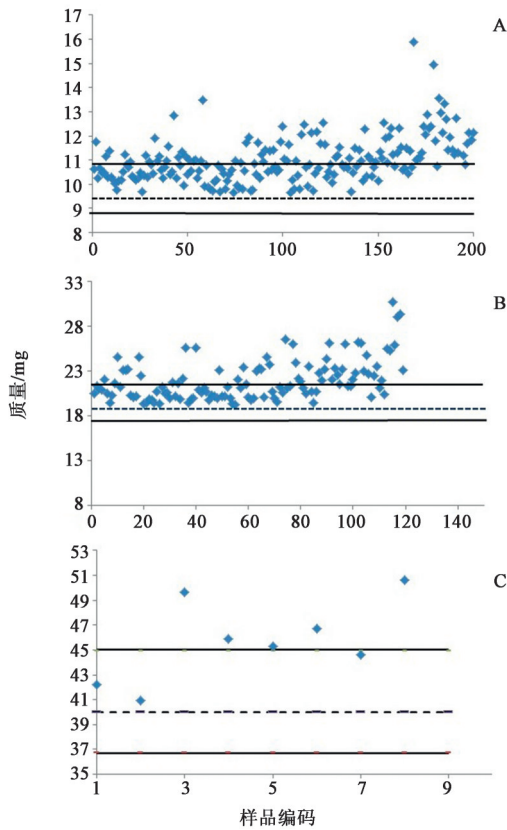
企业9与企业B为同一家企业(图5同)

图2 不同生产企业银杏叶片及银杏叶胶囊中总黄酮醇苷质量的箱式比较

Fig. 2 Box comparison of content of total flavonol glycosides in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules from different manufacturers

批规格1样品,119批规格2样品以及8批规格3样品中萜类内酯质量分别为2.4~5.1, 4.8~11.7, 12.5~13.7 mg,各厂家测定结果具有一定的差异且含量差异较大,不同规格样品中含量最低值与最高值差异可达两倍多。国产制剂质量与银杏叶制剂“金标准”之间的比较见图6。结果发现国家评价性抽验的所有样品均符合2015年版《中国药典》规定,但萜类内酯含量分布范围较宽,仅有部分样品符合“金标准”规定。

3.2.3 游离黄酮 301批银杏叶片及27批银杏叶胶囊中游离黄酮含量均符合规定。201批规格1样品中槲皮素质量均<0.35 mg,119批规格2样品中槲皮素质量均<0.31 mg,8批规格3样品中槲皮素的质量均<0.17 mg,说明各厂家测定结果存在一定差异。201批规格1样品中山柰素质量处于0~0.16 mg,各厂家测定结果存在一定差异;119批规格2样品中



实线所示为威玛舒培博士药厂银杏叶片质量标准的限度范围,设置了上下限;虚线所示为2015年版《中国药典》中银杏叶片(胶囊)的限度,仅设置了下限(图6同)

图3 不同规格银杏叶片和银杏叶胶囊样品中总黄酮醇苷的质量分布

Fig. 3 Content distribution of total flavonol glycosides in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules with different specifications

山柰素质量处于0~0.21 mg,各厂家测定结果具有一定的差异;8批规格3样品中山柰素均未检出。201批规格1样品中异鼠李素质量处于0~0.16 mg,各厂家测定结果具有一定的差异;119批规格2样品中异鼠李素质量处于0.02~0.11 mg,各厂家测定结果具有一定的差异;8批规格3样品中异鼠李素均未检出。不同规格样品中游离槲皮素质量分布见图7,结果发现所有样品均符合规定,而且除规格1中5批样品外,其余样品亦满足《美国药典》40版对银杏叶提取物中槲皮素含量的折算限度要求。

3.2.4 槐角苷 301批银杏叶片及27批银杏叶胶囊中槐角苷均未检出,符合规定。

4 讨论与建议

4.1 总黄酮醇苷 由于银杏叶中黄酮醇苷种类较多,分离难度大,对照品不易得到而且昂贵,因此,2015年版《中国药典》《美国药典》40版,《欧洲药典》

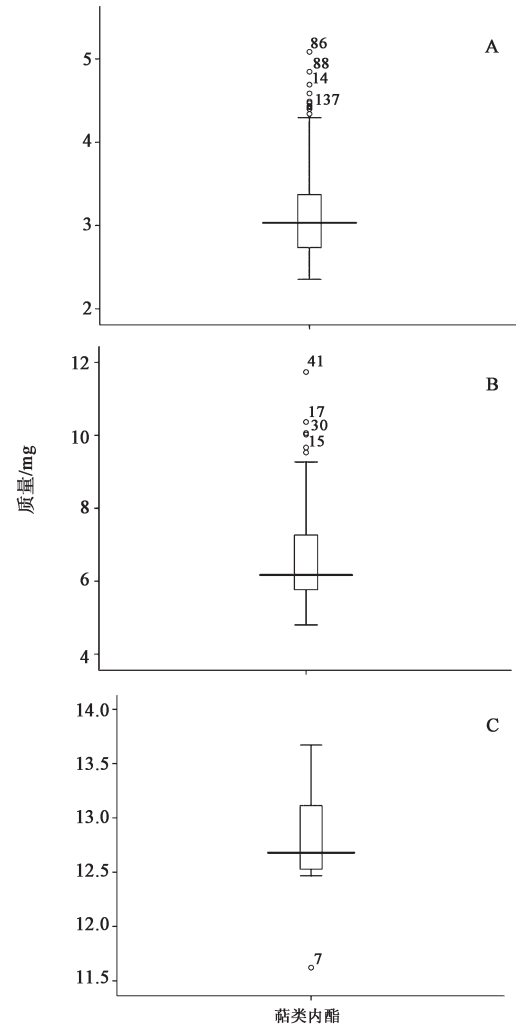


图4 银杏叶片及银杏叶胶囊中萜类内酯质量分布的箱式分析

Fig. 4 Box analysis of content distribution of terpene lactones in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules

9.0版以及威玛舒培“金标准”均先用盐酸水解,然后采用HPLC测定其苷元槲皮素、山柰酚和异鼠李素的方法进行总黄酮醇苷的定量分析^[3-5]。由于测定的并非黄酮醇苷的原型,为了防止非法添加芦丁等廉价易得的黄酮苷来提高黄酮苷元的含量,制定了黄酮苷元的检查项,但黄酮苷元峰面积比的检查并没有杜绝银杏叶提取物的非法添加或造假。

2015年的银杏叶事件,发现部分企业存在擅自将提取工艺中提取溶剂由稀乙醇改为3%稀盐酸,以及添加槐米、槐角或直接勾兑槲皮素、山柰素的违法行为^[1]。此事件的根本原因亦是由于总黄酮醇苷项测定的是3种黄酮苷元而非黄酮苷的原型。采用酸水提取,虽然可能造成部分黄酮苷的分解,但形成了游离槲皮素、山柰素等黄酮苷元类物质,而使总黄酮醇苷的测得值并未减少;而添加槐角的目的,也是因为槐角中存在较多的以山柰酚为苷元的

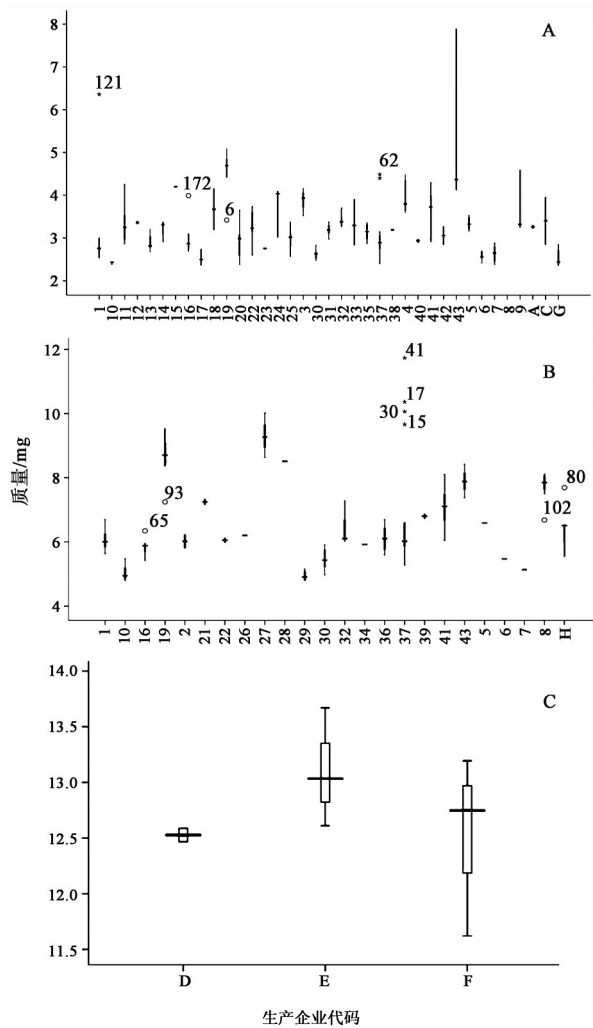


图5 不同生产企业银杏叶片及银杏叶胶囊中萜类内酯质量的箱式比较

Fig. 5 Box comparison of content of terpene lactones in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules from different manufacturers

黄酮苷类成分,添加槐角,酸水解后可增加银杏叶制剂中山柰素的含量,从而达到符合质量标准的要求。近年来银杏叶造假手段不断翻新,根本原因在于质控指标不是真正反映制剂的有效活性成分黄酮醇苷类的原型,而是对黄酮醇苷的水解产物黄酮苷元进行控制,所以建议修订总黄酮醇苷质控方法,测定银杏叶中特有的或有代表性的黄酮苷类成分或能反映银杏叶提取物生物活性的黄酮苷类成分。

4.2 萜类内酯 2015年版《中国药典》银杏叶提取物及银杏叶制剂项下萜类内酯项前处理为液液萃取进行净化,需萃取近10次,方法繁琐费时。有研究发现硅藻土柱可有效净化萜类内酯,且操作简单,《欧洲药典》9.0版^[5]及《美国药典》40版^[4]也均是

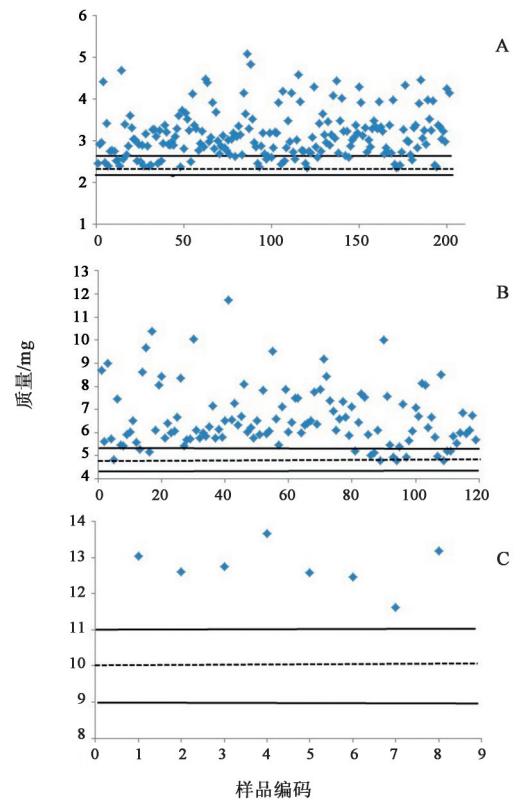


图6 不同规格银杏叶片及银杏叶胶囊样品中萜类内酯的质量分布
Fig. 6 Content distribution of terpene lactones in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules with different specifications

采用硅藻土柱进行净化,因此,建议对萜类内酯前处理方法进行改进。从此次国家评价性抽验样品测定数据来看,萜类内酯含量均高于限度,且有些样品含量是限度的2倍,甚至接近3倍。王劫等^[6]曾考察过银杏叶提取物制剂中萜类内酯含量,在考察的16个国内产品中,按银杏叶提取物标示量(每片含40 mg)计算其提取物中萜类内酯含量,仅有3厂家产品可以达到6%,部分产品萜类内酯含量很低或根本没有。从此次国家评价性抽验结果来看,经过20多年的发展,国产银杏叶制剂质量大幅提升,银杏叶制剂中萜类内酯含量已完全满足标准要求。

萜类内酯为银杏叶中特有的化学成分,在银杏叶制剂中有独特的生物活性。研究表明白果内酯可能是银杏叶提取物具有神经保护作用的重要化合物^[7-10],是 γ -氨基丁酸(GABA)受体的拮抗剂,影响大脑中神经递质GABA。此外,白果内酯会抑制大脑磷脂酶A₂的活性,其激活会引发连锁反应,导致神经元死亡^[7]。另一项研究也报道了白果内酯可以抑制无氧缓冲液对大鼠海马切片胆碱释放的增加,说明白果内酯对缺氧有保护作用,而银杏内酯混合物则没有这种作用^[10]。因此,威玛舒培银杏叶

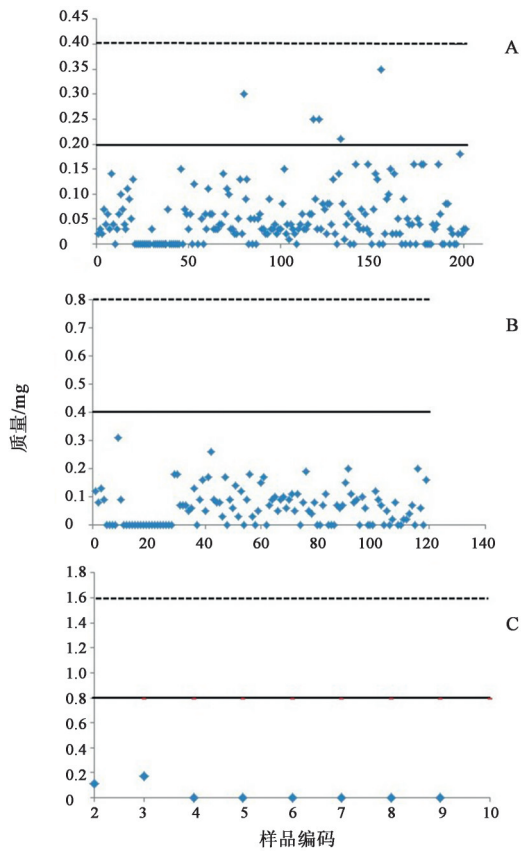


图7 不同规格银杏叶片及银杏叶胶囊样品中游离槲皮素的质量分布

图7 不同规格银杏叶片及银杏叶胶囊样品中游离槲皮素的质量分布

Fig. 7 Content distribution of free quercetin in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules with different specifications

提取物标准,《美国药典》40版^[4]及《欧洲药典》9.0版^[5]均分别设定了白果内酯和银杏内酯的含量上下限。基于此,笔者分别对不同规格样品中白果内酯及银杏内酯(银杏内酯A,B,C之和)的含量进行了统计,见图8~10。结果发现大部分样品不符合《欧洲药典》9.0版的规定,328批银杏叶片与银杏叶胶囊中仅有11批样品符合《欧洲药典》9.0版规定(其中,规格1有8批,规格2有3批),提示国产银杏叶制剂与国外银杏叶制剂存在一定差异。

4.3 游离黄酮 2015年银杏叶事件,不法企业为降低生产成本采用酸水提取,可能造成部分黄酮苷的分解,形成游离的槲皮素、山柰酚(山柰素)等苷元类物质,也存在甚至以槲皮素、山柰酚(山柰素)直接勾兑等问题。因此建立了样品中游离的槲皮素、山柰素、异鼠李素限量检查方法,并制定了游离黄酮的限度^[2]。但由于时间紧张,数据代表性都较为

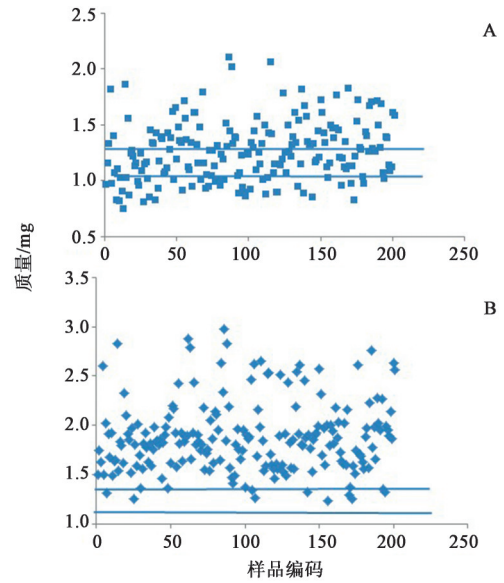


图8 规格1银杏叶片及银杏叶胶囊中白果内酯及银杏内酯的质量分布

图8 规格1银杏叶片及银杏叶胶囊中白果内酯及银杏内酯的质量分布

Fig. 8 Content distribution of bilobalide and ginkgolide in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules of specification 1

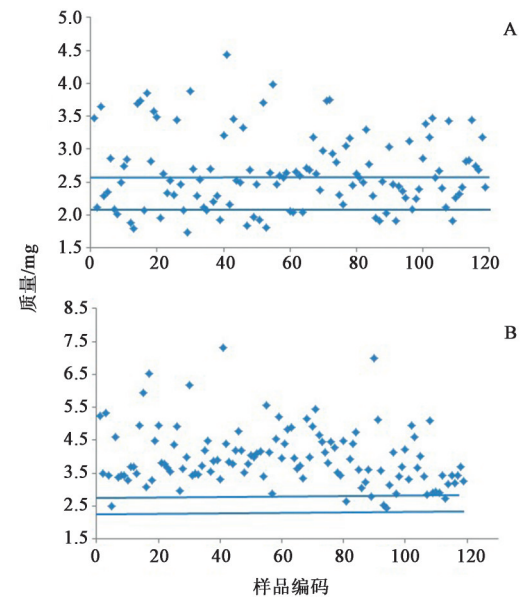


图9 规格2银杏叶片及银杏叶胶囊中白果内酯及银杏内酯的质量分布

图9 规格2银杏叶片及银杏叶胶囊中白果内酯及银杏内酯的质量分布

Fig. 9 Content distribution of bilobalide and ginkgolide in Ginkgo Folium tablets and Ginkgo Folium capsules of specification 2

有限,为保护正规企业的合法利益,有效控制监管风险,采用了适当宽松的限度。此次国家评价性抽检工作对328批银杏叶制剂中游离黄酮的含量进行了测定,从测定结果来看,按照《美国药典》40版对

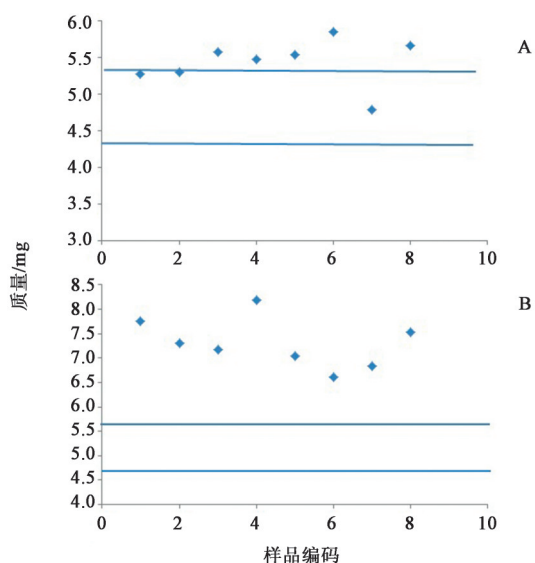


图10 规格3银杏叶片及银杏叶胶囊中白果内酯及银杏内酯的质量分布

Fig. 10 Content distribution of bilobalide and ginkgolide in *Ginkgo Folium* tablets and *Ginkgo Folium* capsules of specification 3

槲皮素的限度规定计,仅有5批不符合规定,大部分样品可满足严格的限度要求,建议后续可以适当严格游离黄酮限度。

5 总结

法定检验结果表明,银杏叶片及银杏叶胶囊总体质量较好,但不同企业之间以及个别企业不同批次之间样品质量差异较大。银杏叶的质量以及银杏叶提取物的生产工艺会直接影响银杏叶制剂的质量,建议银杏叶提取物及银杏叶制剂生产企业对银杏叶的树龄、采收期等进行控制,优化银杏叶提取物的生产工艺参数,提高银杏叶制剂质量的一致性和稳定性。

[参考文献]

- [1] 刘丽娜,金红宇,何轶,等. 银杏叶提取物及其制剂质量监督专项工作中的风险控制[J]. 药物分析杂志, 2017,37(6):1081-1086.
- [2] 刘丽娜,何轶,李耀磊,等. 银杏叶提取物及其制剂补充检验方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2016,36(5): 856-862.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:416.
- [4] 美国药典委员会. 美国药典(USP 40-NF 35)[M]. 马里兰:美国药典委员会,2017:7005.
- [5] 欧洲药典委员会. 欧洲药典(EP 9.0)[M]. 斯特拉斯堡:欧洲药品质量管理局,2017:1368.
- [6] 王劼,袁林,厉进忠,等. 银杏叶提取物制剂中萜类内酯含量考察[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(11): 655-657.
- [7] STRØMGAARD K, NAKANISHI K. Chemistry and biology of terpene trilactones from *Ginkgo biloba*[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2004,43(13):1640-1658.
- [8] HUANG S H, DUKE R K, CHEBIB M, et al. Bilobalide, a sesquiterpene trilactone from *Ginkgo biloba*, is an antagonist at recombinant $\alpha_1\beta_2\gamma_{2L}$ GABA_A receptors[J]. Eur J Pharmacol, 2003, 464(1): 1-8.
- [9] WEICHEL O, HILGERT M, CHATTERJEE S S, et al. Bilobalide, a constituent of *Ginkgo biloba*, inhibits NMDA-induced phospholipase A₂ activation and phospholipid breakdown in rat hippocampus [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1999, 360(6):609-615.
- [10] KLEIN J, CHATTERJEE S S, LÖFFELHOLZ K. Phospholipid breakdown and choline release under hypoxic conditions: inhibition by bilobalide, a constituent of *Ginkgo biloba*[J]. Brain Res, 1997, 755(2):347-350.

[责任编辑 刘德文]