

刺梨对银杏外种皮中银杏酸含量的影响^{*}林奇泗¹, 徐红², 寇智斌², 成昌娟², 牟金金², 石颖²

(1. 徐州医学院药学院, 江苏 徐州 221004; 2. 徐州医学院药学院 2005级, 江苏 徐州 221004)

摘要:目的 通过测定刺梨和银杏外种皮混合前后银杏酸含量的变化, 探讨银杏外种皮和刺梨混合减毒的机制。方法 银杏酸含量测定采用 RP-HPLC法, 选用依利特 E1823707色谱柱, 甲醇-水(2:3)用冰乙酸调 pH至 3.15为流动相, 检测波长为 310 nm, 流速为 0.7 ml/min。结果 加入刺梨后银杏酸含量明显降低。结论 刺梨和银杏外种皮混合提取, 可降低提取物中银杏酸的含量。

关键词:银杏外种皮; 银杏酸; 刺梨; 高效液相色谱法**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2065(2009)09-0621-03

Effect of Rosa roxburghii Tratt fruit on the ginkgolic acid contents of the Ginkgo biloba exocarp

LIN Qisi¹, XU Hong², KOU Zhibin², CHENG Changjuan², MOU Jinjin², SHI Ying²

(1. School of Pharmacy, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221004, China;

2. Undergraduate of Grade 2005, School of Pharmacy, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221004)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of reducing the toxicity of the mixture of Ginkgo biloba exocarp and Rosa roxburghii Tratt fruit by quantitative determination of the variations of ginkgolic acid contents in Ginkgo biloba exocarp and in the mixture. Methods The samples were determined with RP-HPLC method and the separation was performed on a chromatographic column (E1823707 ODS-C180) with a mobile phase consisting of a mixture of methanol to water (2:3), of which the pH was adjusted to 3.15 with glacial acetic acid as the mobile phase with the detection wavelength of 310 nm and at a flow rate of 0.7 ml/min. Results The contents of ginkgolic acids in the preparations obviously decreased with the addition of Rosa roxburghii Tratt fruit. Conclusion The compatibility of Ginkgo biloba exocarp and Rosa roxburghii Tratt fruit reduced the contents of ginkgolic acids in the preparation.

Key words: Ginkgo biloba exocarp; ginkgolic acid; Rosa roxburghii Tratt fruit; HPLC

银杏是一种具有很高药用价值的植物^[1], 各种制剂在国内外广泛应用于脑血栓、冠心病、老年痴呆等心脑血管疾病的预防和治疗^[2]。银杏外种皮是银杏种子硬壳外面的部分, 研究发现银杏外种皮也具有很高的药用价值, 它具有抑菌杀菌、杀虫、抗肿瘤、致突变、致癌、抗过敏、过敏等作用^[3]。但在采收时, 往往将银杏外种皮作为废物丢掉, 既污染环境, 又浪费资源。虽然目前还没有具体的银杏外种皮产品开发出来, 但随着人们对银杏外种皮的进一步了解, 银杏外种皮肯定会有广阔的应用空间^[4]。

但是银杏叶和银杏外种皮中含有大量的银杏酸。银杏酸是一类 C13~C17的烷基酸或烷基酚类化合物, 被认为具有致过敏性和致突变性, 是银杏制剂中的限量因子^[5-6]。相关研究发现, 此类引起不

良反应的烷基酚酸类物质, 占银杏叶干重的 1%~2%^[5], 占银杏外种皮的 3%~7%^[7]。目前已知的银杏酸主要有白果酸、氢化白果酸、氢化白果亚酸和白果新酸等, 各化合物结构见图 1。

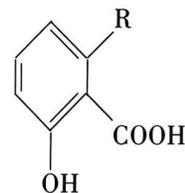
白果酸: $R = (CH_2)_7CH = (CH)(CH_2)_5CH_3$ 氢化白果酸: $R = (CH_2)_{14}CH_3$ 氢化白果亚酸: $R = (CH_2)_{13}CH_3$ 白果新酸: $R = (CH_2)_{12}CH_3$

图 1 银杏酸化学结构

^{*} 基金项目: 徐州医学院课题 (08KJ37)

目前,国内外对银杏酸分离除杂多采用化学提纯手段,但过高的工艺成本,使某些生产企业难以承受。潘苏华等^[8]研究发现,银杏叶与刺梨汁共同提取时,所得溶液中银杏酸的含量会降低,以此可达到减毒增效之目的。

为了更好的保证银杏外种皮制剂的临床用药安全性,本试验参照以往的研究^[8-9],在银杏外种皮中加入刺梨共同提取,考察银杏酸含量的变化。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 依利特 UV230II 紫外-可见检测器,依利特 P230II 高压恒流泵、E1823707-C18(4.6 mm ×200 mm, 5 μm) ODS 色谱柱、分析天平 (FA1004, 上海精科)。

1.2 试剂 银杏外种皮(产地:江苏泰州),刺梨(产地:河南开封),甲醇(色谱纯),双蒸水,乙醚、碳酸钠、冰醋酸等为分析纯;银杏酸对照品(白果酸,实验室自制)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 E1823707-C18 ODS 色谱柱,甲醇-水(2:3,用冰乙酸调 pH 至 3.15)为流动相,检测波长为 310 nm,流速为 0.7 ml/min,柱温 25℃。

2.2 供试品的制备

2.2.1 供试品 1 溶液 取 5 g 银杏外种皮粉末,放入 200.0 ml 的 70% 的甲醇中浸泡 48 h 然后抽滤,减压回收至 50 ml 用 50 ml 乙醚萃取 3 次,合并乙醚萃取液然后用 5% 的碳酸钠(体积比 1:1)萃取 3 次,合并碳酸钠萃取液,用蒸馏水定容至 1000.0 ml 并用稀盐酸调 pH 至 2 得到供试品 1 溶液。

2.2.2 供试品 2 溶液 取 5 g 刺梨粉末和 5 g 银杏外种皮粉末,混合均匀。按供试品 1 制备方法操作,得到供试品 2 溶液。

2.2.3 阴性对照品溶液 取 5 g 刺梨粉末,按供试品 1 制备方法操作,得到阴性对照品溶液。

2.3 标准曲线的测定 精密配制银杏酸对照品的甲醇溶液 50.0、100.0、150.0、200.0、250.0 mg/L 分别精密吸取上述 5 种浓度的银杏酸对照品溶液 20 μl 按上述色谱条件进样,测定峰面积。以浓度 c (mg/L) 为横座标,以峰面积 A 为纵座标,得线性回归方程 A=9.9006c+17.35,相关系数 r=0.999。

2.4 样品测定 分别取上述供试品 1 溶液、供试品 2 溶液、阴性对照溶液、银杏酸对照品溶液按标准曲线相同的色谱条件进样,对银杏酸含量进行检测。结果见表 1、图 2。

表 1 银杏酸含量测定情况

样品	外种皮取样量 (g)	峰面积 A	c(mg/L)	银杏酸含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
供试品 1	5.0451	1454.64	145.17	2.90	2.94	1.41
	5.0821	1492.59	149.01	2.98		
	5.1267	1484.47	148.18	2.96		
供试品 2	5.1067	921.55	91.33	1.79	1.77	0.86
	4.9954	885.51	87.69	1.76		
	5.0148	893.27	88.47	1.77		

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度考察 精密吸取浓度为 150.0 mg/L 的对照品溶液,连续进样 6 次, RSD 为 0.68%。

2.5.2 稳定性考察 精密吸取供试品 2 溶液,同法在 0、1、2、4、8、12 h 分别测定 1 次, RSD 为 1.71%。结果表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.5.3 重复性考察 精密称取同一银杏外种皮样

品及刺梨样品,按供试品 2 溶液制备方法平行制备 5 份,依法各份进样 2 次,样品的平均含量为 1.80%, RSD 为 1.35%。

2.5.4 加样回收率 精密称取已知含量的供试品 2 溶液 6 份,分别加入不同量的对照品溶液,按“2.3 标准曲线的测定”项下方法制备样品并测定,平均回收率为 101.38%, RSD 为 1.84%。结果见表 2。

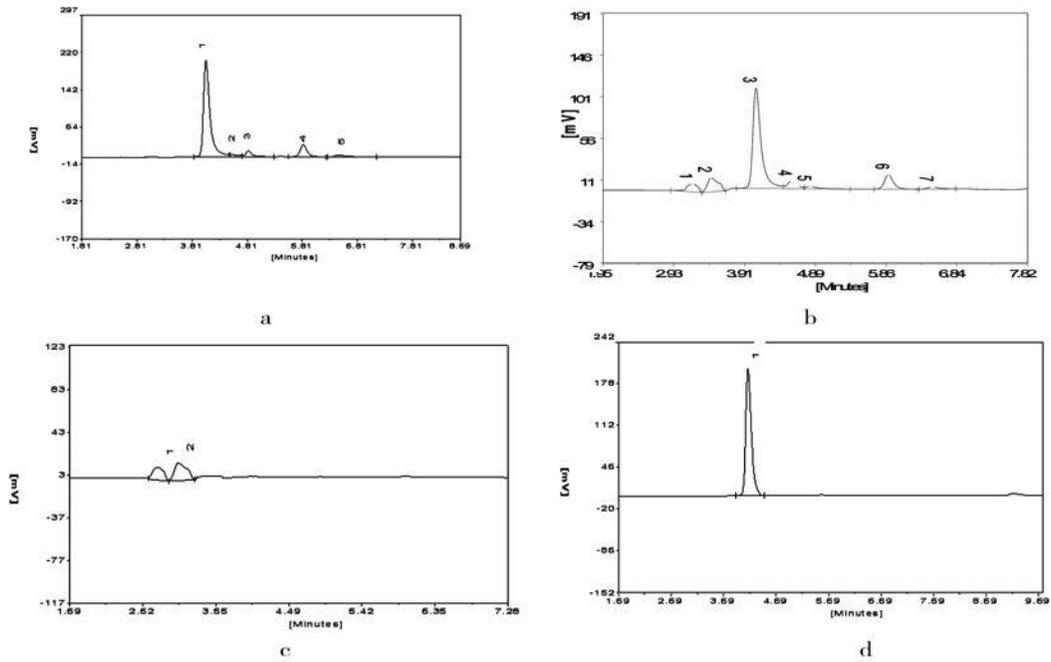


图 2 HPLC 色谱图
a 供试品 1 溶液; b 供试品 2 溶液; c 阴性对照品溶液; d 银杏酸对照品溶液

表 2 银杏酸加样回收率试验结果

序号	样品中银杏酸的含量 (mg)	加入量 (mg)	测定值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	50.53	50.26	101.34	101.09	101.38	1.84
2	51.84	50.26	102.48	100.76		
3	109.57	102.58	210.52	98.41		
4	102.91	102.58	209.68	104.08		
5	153.25	148.42	304.98	102.23		
6	148.59	148.42	299.58	101.73		

3 讨论

阴性对照无干扰,同时各项方法学考察均符合规定,提示该含量测定方法可靠。本研究结果表明:银杏外种皮提取物和刺梨混合后,可使样品中银杏酸的含量降低。是否因刺梨中某种成分与银杏酸结构的酚羟基、羧基在一定条件下发生反应而改变了银杏酸原有的结构,还有待于进一步研究。以后拟采用刺梨和银杏酸对照品混合提取,采用液质联用的方式研究刺梨配伍前后提取产物的改变,为提高银杏产品的安全性提供实验基础。

参考文献:

[1] 安建平,王延璞,赵非佚,等.银杏化学成分及药理作用的研究和应用进展[J].天水师范学院学报,2003,23(5):34-37.
[2] Braquet P. The ginkgolides: potent platelet activating factor antagonists isolated from ginkgo biloba L [J]. Drug Fut 1987, 12

(7): 643-699.
[3] 唐于平,楼凤昌,王欢,等.银杏外种皮的化学成分和药理作用[J].药学进展,2000,24(3):152-155.
[4] 梁立兴.银杏外种皮的研究现状及开发利用前景[J].中国资源综合利用,2003,21(10):12-14.
[5] 刘新,饶海丽.银杏叶制剂中毒性物质—银杏酸[J].内蒙古中医药,2008,27(6):45-46.
[6] Baum-Ruppert G, Luepke NP. Evidence for toxic effects of alkylphenols from Ginkgo biloba in the hen's egg test (HET) [J]. Phytomedicine 2001, 8(2): 133-138.
[7] 赵成林.银杏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.
[8] 潘苏华,刘学湘,董李娜,等.银杏叶提取物与刺梨不同比例配伍银杏酸的含量比较[J].中国现代药物应用,2007,1(12):7-8.
[9] 张小利,欧阳臻,杨克迪,等.银杏酸的分离制备及 HPLC 分析[J].中药材,2003,26(8):557-559.

收稿日期:2009-06-24 修回日期:2009-09-07

本文编辑:孙立杰