

银杏叶提取物的药学研究进展

肖斯婷¹, 曹春然¹, 刘红艳¹, 高晓新¹, 孙圆媛¹, 赵晋燕¹, 李雪梅¹, 郭玉东¹, 朱春玥¹, 陈薪宇¹, 王佳帅¹, 李爽¹, 彭玉¹, 王瑶¹, 王旭¹, 胡宇驰¹, 郭洪祝¹, 杨文良^{1*}, 蔡铁全^{2*}, 陈广耀² (1. 北京市药品检验研究院, 北京 102206; 2. 国家市场监督管理总局食品审评中心, 北京 100070)

摘要 目的: 对银杏叶提取物的研究趋势进行归纳和分析, 为银杏叶的未来研究提供参考。方法: 检索“银杏叶”提取物已发表文献, 委托国家图书馆进行已发表文献的专业检索, 对文献中银杏叶提取物的药学研究趋势进行梳理归纳并分析。结果与结论: 文献整理发现, 银杏叶提取物在提取工艺方面, 以乙醇提取后过大孔树脂柱处理的工艺应用最为广泛, 提取效率也最高效。化学成分方面, 主要有效成分为银杏黄酮和银杏内酯, 主要毒性成分为银杏酸。药理作用方面, 银杏叶提取物的主要功效是抑制血小板凝聚、抗氧化、抗炎、改善记忆、降血脂和心脑血管保护等, 使用银杏叶提取物优于单独使用银杏黄酮或银杏内酯。安全性研究方面, 银杏叶提取物总体使用安全, 文献报道的热点集中在银杏酸的致敏性。银杏叶提取物的质量控制关键是其活性成分银杏黄酮和银杏内酯, 安全性控制关键在于银杏酸的限量。

关键词: 银杏叶提取物; 活性; 毒性; 安全性; 提取工艺; 化学成分; 药理作用; 质量控制

中图分类号: R95; R932; R961.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)04-0429-15
doi:10.16153/j.1002-7777.2022.04.008

Advances in Pharmaceutical Research of Extracts from Ginkgo Biloba Leaves

Xiao Siting¹, Cao Chunran¹, Liu Hongyan¹, Gao Xiaoxin¹, Sun Yuanyuan¹, Zhao Jinyan¹, Li Xuemei¹, Guo Yudong¹, Zhu Chunyue¹, Chen Xinyu¹, Wang Jiashuai¹, Li Shuang¹, Peng Yu¹, Wang Yao¹, Wang Xu¹, Hu Yuchi¹, Guo Hongzhu¹, Yang Wenliang^{1*}, Cai Tiequan^{2*}, Chen Guangyao² (1. Beijing Institute for Drug Control, Beijing 102206, China; 2. Food Evaluation Center, State Administration for Market Regulation, Beijing 100070, China)

Abstract Objective: To summarize and analyze the research trend of ginkgo biloba leaves extract, and provide references for the future research of ginkgo biloba leaves. **Methods:** The published literatures of ginkgo biloba extract were retrieved, and the National Library of China was commissioned to conduct professional retrieval of published literatures. The pharmaceutical research trends of ginkgo biloba extract in the literatures were summarized and analyzed. **Results and Conclusion:** After literature review, it was found that ethanol extraction with macroporous resin column treatment was most widely used, and the extraction efficiency was the highest. In terms of chemical composition, the main active components are ginkgo flavone and ginkgolide, and the main toxic

component is ginkgolic acid. In terms of pharmacological effects, the main effects of ginkgo biloba leaf extract are inhibition of platelet aggregation, anti-oxidation, anti-inflammation, improvement of memory, lowering blood lipids and cardiovascular and cerebrovascular protection, etc. Using ginkgo biloba leaf extract is superior to using ginkgo brass or ginkgolides alone. In terms of safety studies, ginkgo biloba leaf extract is generally safe in use, and literatures focus are on the sensitization of ginkgo acid. The key to the quality control of ginkgo biloba leaf extract is its active components, ginkgo flavone and ginkgolide; and the key to the safety control lies in the limit of ginkgo acid.

Keywords: ginkgo biloba leaf extract; activity; toxicity; security; extraction process; chemical composition; pharmacological action; quality control

银杏叶及其提取物是我国常用的药用原料,并被《中华人民共和国药典》收载,具有扩张血管、调节血脂、拮抗血小板活化因子、保护缺血损伤、抗炎及抗肿瘤等多种药理作用^[1],在治疗冠心病、脑血栓、脑缺血、脑功能障碍、脑外伤后遗症、神经系统疾病和清除氧自由基等方面具有确切的疗效,广泛应用于药物、保健品、化妆品等领域。检索银杏叶及其提取物的相关文献,其数量众多,范围涉及广。本文就银杏叶提取物的相关研究文献进行梳理,归纳总结出银杏叶提取物研究的趋势和规律,为银杏叶的未来研究提供参考。

1 研究方法

委托国家图书馆,就银杏叶及其提取物相关文献进行全网数据库文献检索,得到文献检索结果后整理并解读,从银杏叶及提取物的提取工艺、化学成分、质量控制项目与限度、活性、毒性与副作用等方面着手进行文献梳理总结。

1.1 确定专业检索机构

根据数据库的完整程度、价格、服务以及专业程度,选择与国家图书馆签订检索合同,以银杏(白果)或银杏叶(成分、活性物质)提取相关和药理毒理相关,两个专题进行全网全数据库的文献检索。详见图 1。

1.2 确定关键词和检索策略

使用“银杏叶”和“银杏叶提取物”为总关键词,在中国知网进行初步的检索,发现文献量巨大,无法一一进行解读,经中药化学、临床中药、临床医生以及安全审评专家讨论,明确以“银杏叶”和“银杏叶提取物”为总关键词,分别从提取方式、产物、活性和安全性四个方向着手进行检索分类。

同时,就文献中重点提及的“乙醇提取”“水提取”和“二氧化碳超临界萃取”工艺,以及银杏叶的主要成分“银杏黄酮”“银杏内酯”和“银杏酸”入手,细化检索。

1.3 确定数据库

确定检索的数据库:国内外常见的文献数据库,美国食品药品监督管理局、欧盟食品安全局、澳大利亚药品管理局以及加拿大药监局官网所公布的相关数据。工艺与化学成分方面,重点关注文献库:① CAPLUS(化学文摘);② AA(Analytical Abstracts,分析化学文摘);③ IPA(International Pharmaceutical Abstracts,国际药文学文摘)。活性有效性及安全性方面,重点关注文献库:① BIOSIS® Toxicology(生物学文摘毒理学);② ToxFile®;③ Toxicology Abstracts;④ TOXLINE。

最终检索数据库:

(1) 清华同方中国学术文献网络出版总库

① 中国学术期刊网络版(1915 年至今)

② 中国博士学位论文全文数据库(1984 年至今)

③ 中国优秀硕士学位论文全文数据库(1984 年至今)

④ 中国重要会议论文全文数据库(1953 年至今)

⑤ 中国重要报纸全文数据库(2000 年至今)

⑥ 中国专利全文数据库(1985 年至今)

(2) 万方数据知识服务平台

① 万方数字化期刊(1998 年至今)

② 中国学位论文全文数据库(1980 年至今)

③ 中国学术会议论文全文数据库-中文版(1998 年至今)

(3) 维普中文科技期刊数据库(1989 年至今)

- (4) 中国生物医学文献数据库 (1978 年至今)
- (5) Web of Science™ Core Collections (SCI-EXPANDED, CPCI-S, ESCI) (1900 年至今)
- (6) MEDLINE® (WOS 平台) (1950 年至今)
- (7) STN 国际联机检索平台数据库 (SCISEARCH、MEDLINE、COMPENDEX、BIOSIS、BIOTECHNO、CABA、CAPLUS、IPA、PQSCITECH、EMBASE、ESBIOBASE、FSTA) :

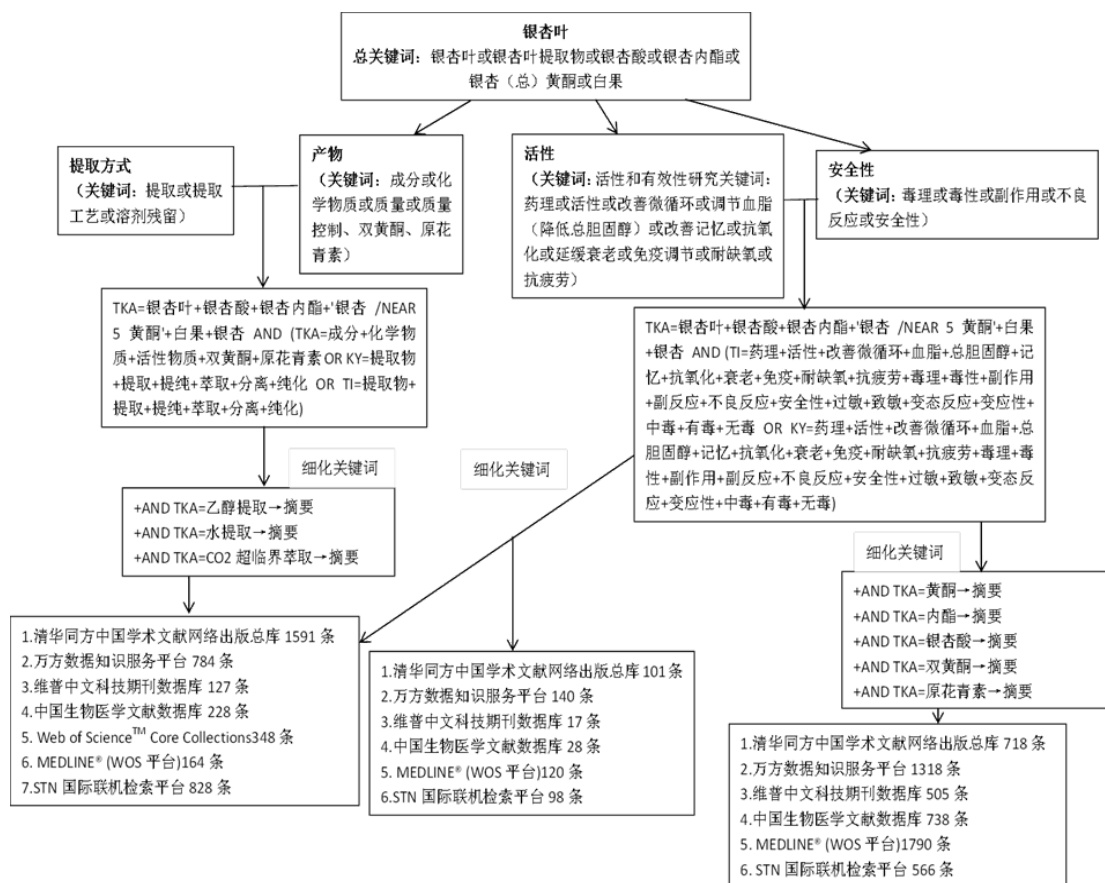
- ① SCISEARCH – ISI Science Citation Index(1974 年至今)
- ② MEDLINE – MEDLINE(R) File (1965 年至今)
- ③ COMPENDEX – COMPENDEX*PLUS File (1970 年至今)
- ④ BIOSIS – The BIOSIS Previews(R)/RN File (1926 年至今)
- ⑤ BIOTECHNO – BIOTECHNOBASE (1980 年至 2003 年)

- ⑥ CABA – CAB ABSTRACTS (1973 年至今)
- ⑦ CAPLUS – The Chemical Abstracts Plus File
- ⑧ IPA – International Pharmaceutical Abstracts (1970 年至今)
- ⑨ PQSCITECH – ProQuest Science and Technology Database (1962 年至今)
- ⑩ EMBASE – EMBASE File (1974 年至今)
- ESBIOBASE – Elsevier Biobase (1994 年至今)
- ⑪ FSTA – Food Science Technology Abstracts (1969 年至今)

1.4 文献检索

经过关键词的细化后, 国家图书馆按关键词和检索策略, 编制检索程序后在确定的数据库中进行检索, 检索结果经委托单位确定后, 国家图书馆提交盖章确认的文献检索报告, 并提供文献的摘要等关键信息, 重要的研究文献提供全文。

专业检索报告结果见图 1。



注: AND 表示“和”; OR 表示“或者”; NEAR 表示“附近搜索, 搜索范围使用“ ”括起, 搜索附近范围内词语的个数为 NEAR 后面的数字”; TKA 表示“题目、关键词和摘要”; TI 表示“题目”; KY 表示“关键词”; “+”表示其左右的检索词在结果中出现其一即可。

图 1 银杏叶提取物研究文献的检索关键词、检索策略及检索结果

2 研究结果

2.1 文献报道的年代特征

以“银杏叶”为主题词,各年份统计结果见图2,可见从1992年开始,对于银杏叶的研究开始增多,至2007年左右达到峰值,后虽有减少但是每年还有大约400篇文献,说明银杏叶的研究自2000年一直较多,与2000年后大量使用是符合的。以银

杏叶提取物、银杏黄酮、银杏内酯和银杏酸为主题,统计各年份文献结果见图3,可见银杏叶提取物相关文献有减少趋势;银杏内酯的文献研究量则有上升趋势,且其数量明显多于银杏黄酮的研究;而银杏酸的研究逐年上升,表明银杏叶提取物毒性的研究越来越被重视,并逐渐集中到银杏酸上。

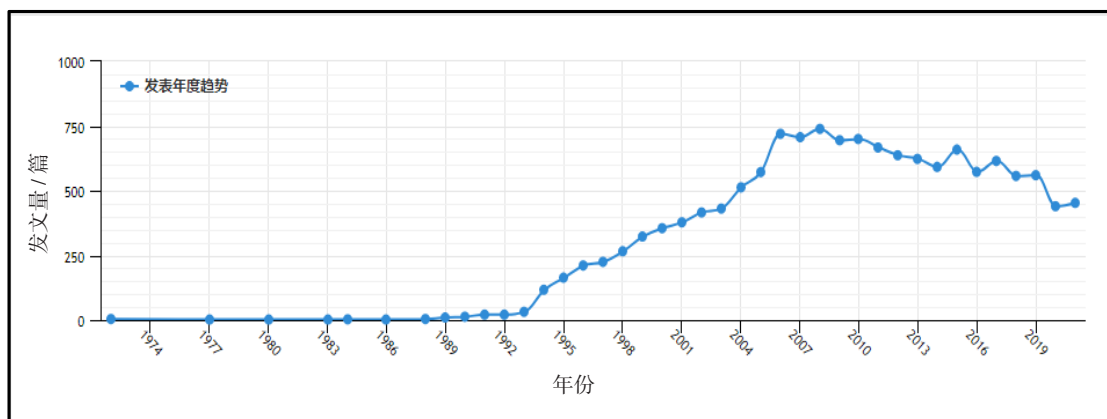


图2 以“银杏叶”进行主题检索文献的出版年代分布图

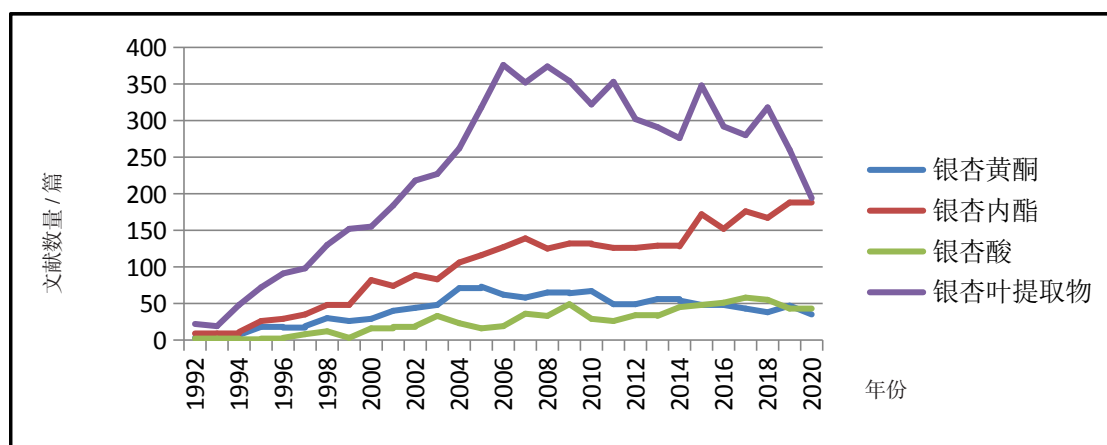


图3 银杏叶提取物主要成分历年文献数量图

2.2 工艺关键特征分析

对于银杏叶的提取物,有水提法、醇提法、CO₂超临界萃取法、有机溶剂提取法,还有细胞和组织培养合成法、微波预处理提取法和酶提取法等^[2-9]。根据文献报道的数量,结合已批准产品的工艺,对乙醇提取工艺进行归纳整理。

对提及乙醇浓度的文献进行总结,分析见图

4,可见文献中提及的银杏叶提取乙醇浓度,报道最多的是70%和60%,这与《中华人民共和国药典》2020年版中“银杏叶提取物”提取方法使用稀乙醇提取,即49.5%~50.5%乙醇提取有差异。对于为何会存在工艺上乙醇提取浓度的差异,尚没有找到文献数据支持。

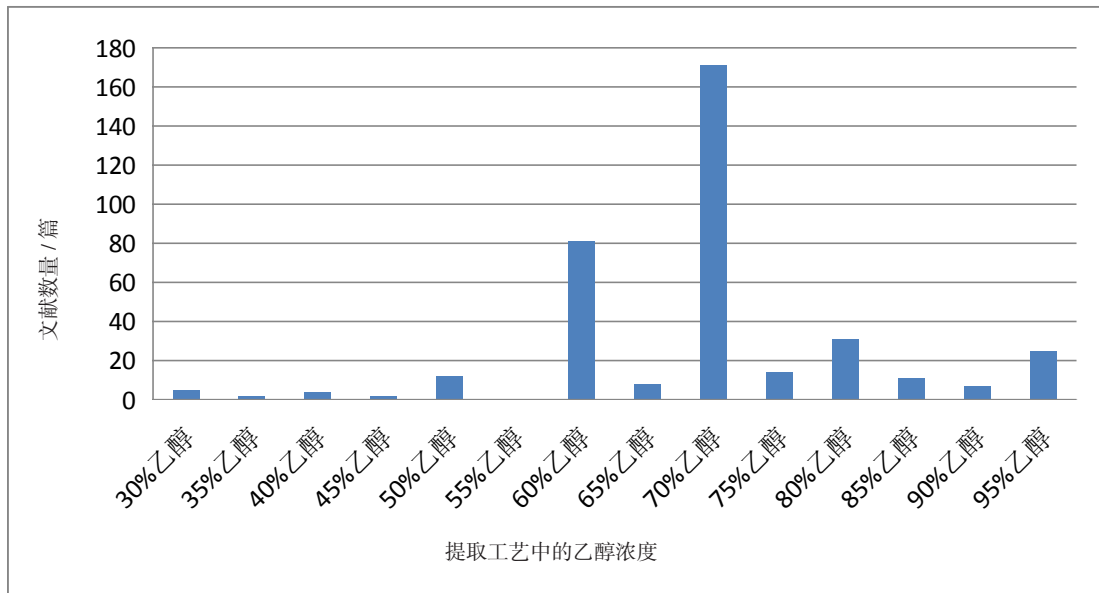


图4 银杏叶提取物研究文献中工艺研究报告不同乙醇浓度的文献量统计

银杏叶提取物乙醇提取后处理工艺的文献数量统计见图5,可见过聚酰胺柱后处理有利于黄酮成分的富集^[10-11],不同型号的大孔树脂不但能富集黄

酮,也可富集内酯^[12-14],同时还可以降低银杏酸含量^[15]。乙醇提取后经乙酸乙酯萃取的,主要是对内酯进行富集,特别是对内酯B进行富集^[16-18]。

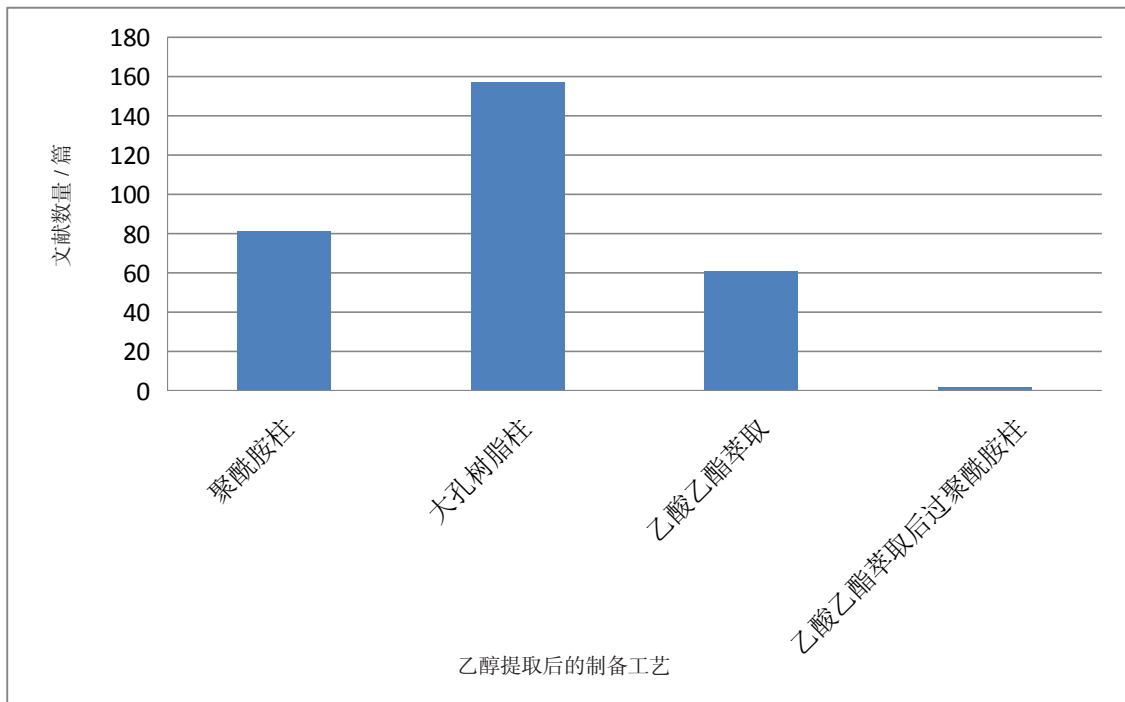


图5 银杏叶提取物乙醇提取后处理工艺的文献数量统计

2.3 化学成分文献报道特征分析

从所有文献的研究结果看,银杏叶提取物的活性成分研究集中在银杏黄酮和银杏内酯两大类上,毒性成分主要是银杏酸。

对银杏内酯再进行细分,可见研究数量最多的还是银杏内酯B,其次是银杏内酯A,其余的银杏内酯C、银杏内酯N、银杏内酯K、白果内酯研究均较少,统计见图6。

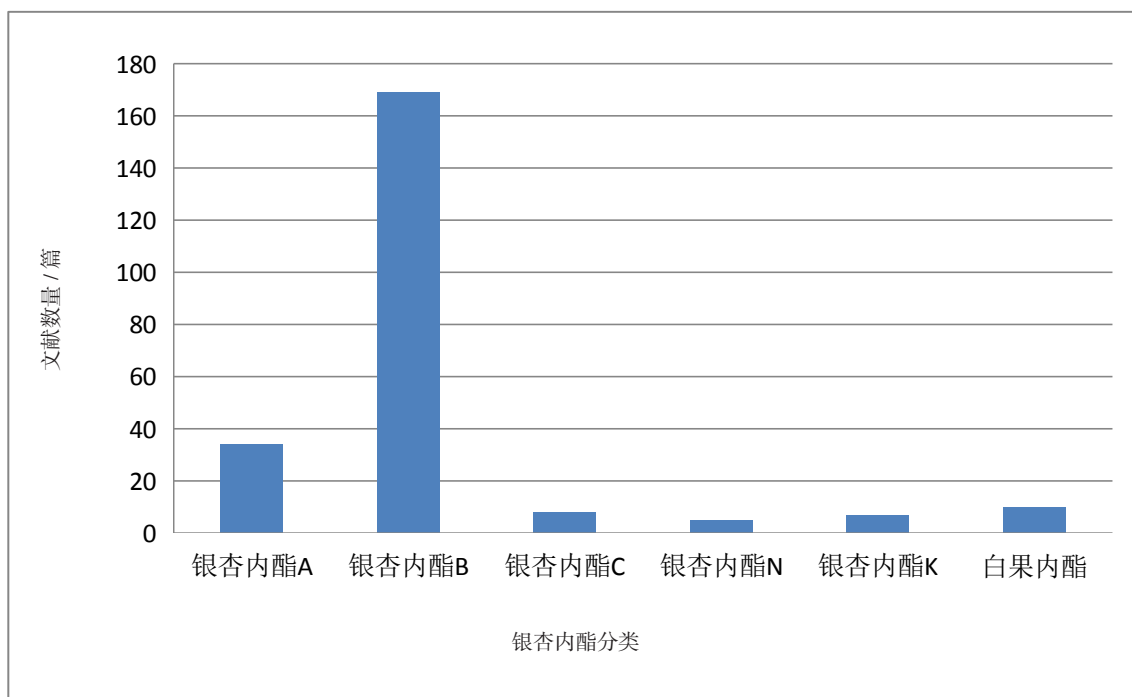


图6 不同银杏内酯文献报道量统计

2.4 药理作用特征分析

银杏叶提取物是最常用的银杏叶制剂原料，其所含有效成分以银杏黄酮和银杏内酯为主，将文献中所提及的银杏叶提取物文献进行梳理统计，并作图（见图7），发现所有文献均表示，其在各种功

效方面均优于单独使用银杏黄酮或银杏内酯，总结所有关于银杏叶提取物的功效，可大致分为五点：抗氧化、抗凝血、心血管的保护作用以及降血脂的功效，而银杏叶提取物对于阿尔茨海默症的功效，主要得益于其调节血脂的功能^[19-23]。

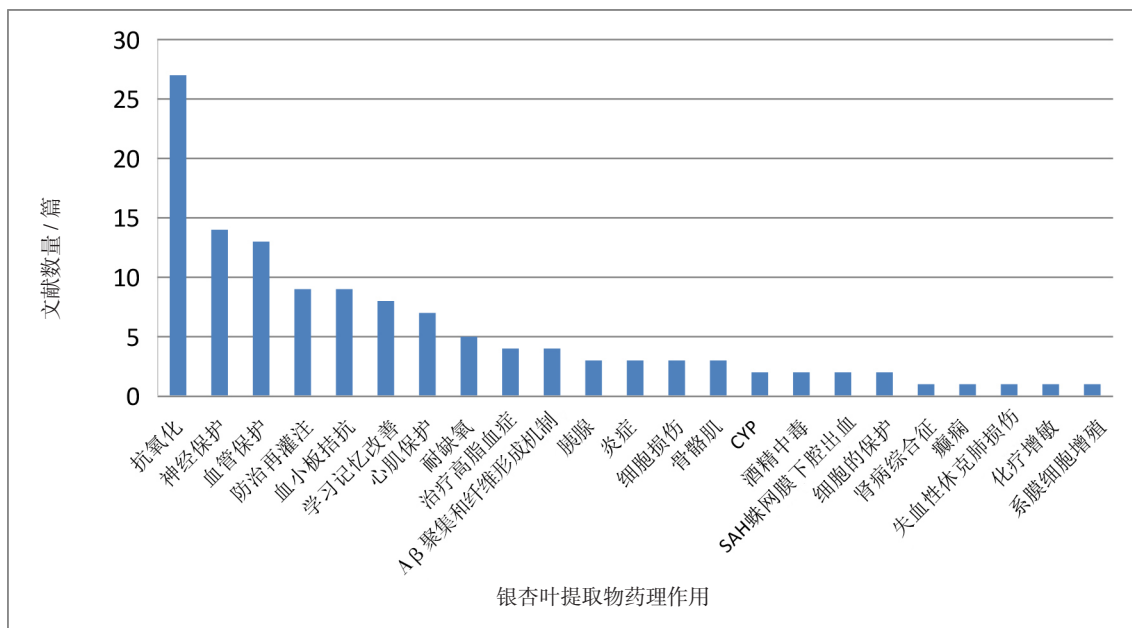


图7 银杏叶提取物功效关键词统计

2.4.1 银杏黄酮药理作用特征分析

将有关银杏黄酮的文献选出并进行整理，统计与银杏黄酮有关的功效关键词，见图8。可见针对

银杏黄酮的研究主要集中在抗氧化、防治再灌注损伤、降血脂、肝损伤保护、增强记忆以及免疫调节上。

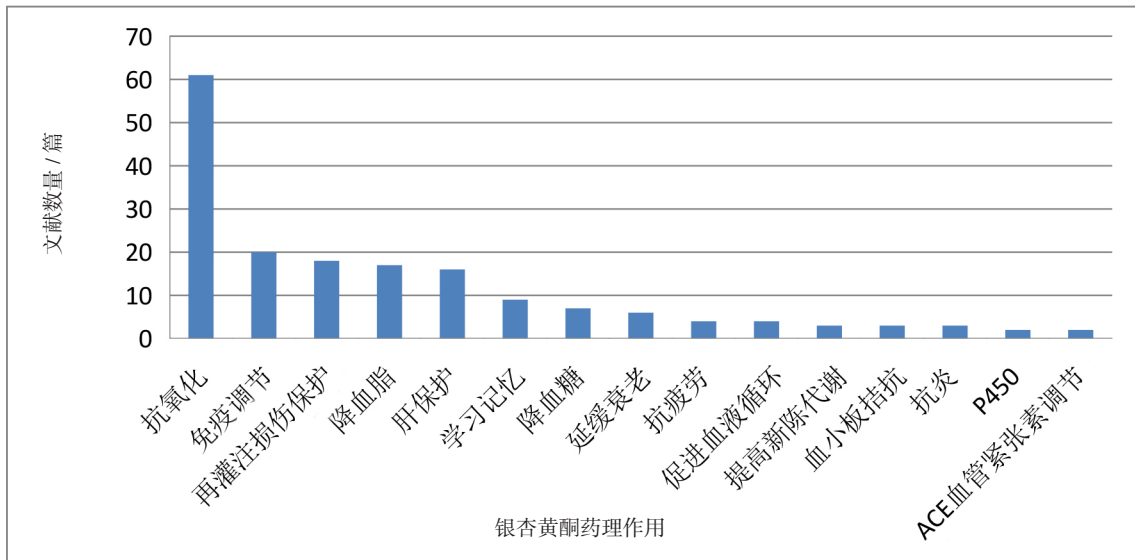


图8 银杏黄酮功效关键词文献数量统计

详细解析其药理作用发现，银杏黄酮的防治再灌注损伤、降血脂、肝损伤保护、增强记忆以及免疫调节，均是建立在其抗氧化作用的基础之上的，而其抗氧化能力的强弱，单独的银杏黄酮成分不及银杏叶提取物的抗氧化能力强，就银杏黄酮的单体成分而言，其抗氧化能力的排序：槲皮素>异鼠李素>山奈酚；银杏黄酮清除 DPPH 自由基具有量效关系，且槲皮素和异鼠李素具有协同作用。银杏黄

酮抗氧化能力优于银杏内酯^[24-28]。

对于银杏叶黄酮单成分的不良反应、过敏或过量服用的报道，文献中没有提及。

2.4.2 银杏内酯药理作用总结

通过文献梳理，对于银杏内酯的药理作用，功效关键词汇总统计见图9，其主要功效为抗氧化、抑制血小板聚集、防止缺血再灌注损伤、改善记忆、心肌细胞保护及炎症损伤保护^[29-30]。

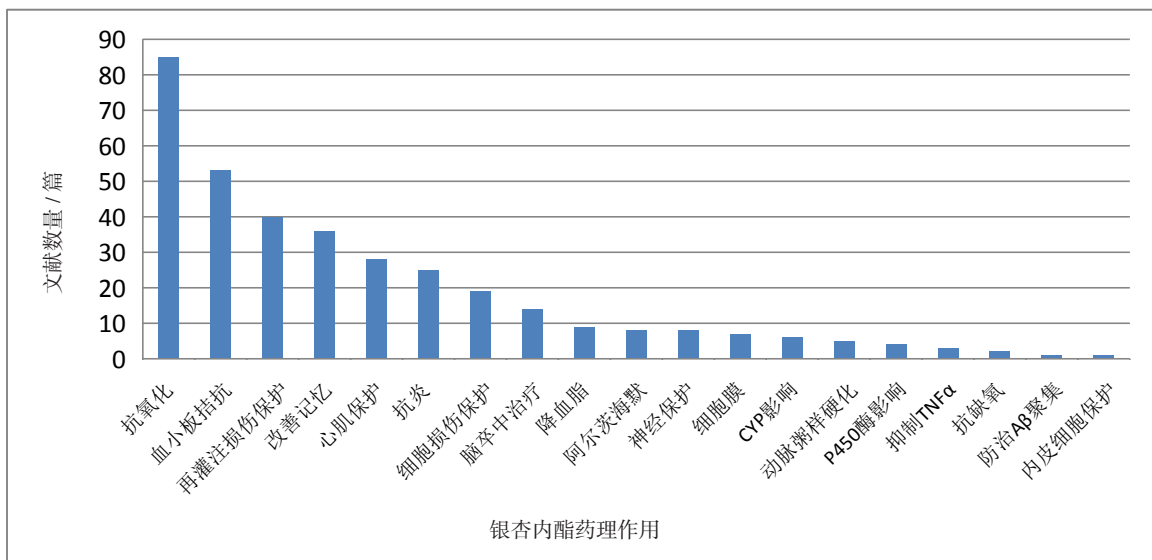


图9 银杏内酯功效关键词趋势统计

对6种银杏内酯功效分别进行解读:

(1) 银杏内酯A: 在人血浆中主要以闭环形式存在, 在大鼠体内的绝对生物利用度为 $(61.1 \pm 10.4)\%$ 。银杏内酯B在人血浆中, 主要以开、闭环2种形式存在, 银杏内酯A暴露量与银杏内酯B相当^[31-32]。银杏内酯溶解性和渗透性均较差, 导致其口服生物利用度较低, 主要功效作用在于对抗炎症^[31], 银杏内酯A对胆碱能损伤记忆功能具有恢复作用, 其对大鼠脑神经细胞和肝细胞损伤均有保护作用; 且存在损伤逆转作用^[33]。银杏内酯A能诱导CYP3A23的表达, 对CYP3A4有转录无诱导作用^[34]。

(2) 银杏内酯B: 主要功效有降脂抗炎抗氧化、记忆改善、血小板拮抗、细胞保护以及脏器保护, 而银杏内酯B的改善记忆、细胞保护及脏器保护作用, 均以降脂、抗炎、抗氧化、血小板拮抗为基础。银杏内酯B在大鼠体内的绝对生物利用度为 $(27.2 \pm 7.7)\%$ ^[32]。在给药方式上, 鼻腔给药方式较静脉注射和灌胃方式更具有药动学优势^[35]。

银杏内酯B的药理作用机制(见图10)研究较多, 总结如下:

① 降脂抗炎抗氧化: 通过文献分析发现, 银杏内酯B的降脂^[36]、抗炎、抗氧化三个作用是密不可分的, 其能够通过影响炎症因子和抗氧化作用减轻高脂饮食喂养载脂蛋白E基因敲除小鼠的动脉粥样硬化损伤^[37]。银杏内酯B抗炎活性呈现多分子、多靶点和多通路特点^[38]。同时银杏内酯B的其他功效作用, 如改善心肌缺血再灌注损伤、抗动脉粥样硬化、减轻脑水肿等功效, 均是建立在其降脂、抗炎、抗氧化的基础之上的。人体试验中, 其在改善血压、血脂水平, 促进血流动力学好转、延缓疾病

进展等方面, 使用安全可靠^[9]。

② 改善记忆: 在记忆改善方面, 银杏内酯B可有效改善急进高原大鼠空间记忆的形成与保持能力。同时可改善阿尔茨海默症大鼠学习记忆能力, 银杏内酯可下调缺氧缺血性脑损伤(Hypoxic Ischemic Brain Damage, HIBD)后脑组织Caspase-3表达及上调血管内皮生长因子(VEGF)表达, 从而减轻并修复脑损伤^[39-43]。

③ 抑制血小板凝聚: 在银杏叶提取物及银杏内酯的制剂使用中, 血小板的拮抗作用是银杏叶制剂最为突出的作用特点之一, 也是药物过量的重要风险点, 银杏内酯B能够有效抑制胶原(Collagen)诱导的血小板聚集以及活化血小板CD40 Ligand(CD40L)的表达, 并明显抑制丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Akt)磷酸化, 所以银杏内酯B能够通过PI3K/Akt信号传导通路抑制血小板活化^[34, 44]。同时文献表明, 对于大脑的保护作用, 也倚仗于其对血小板的拮抗作用^[45]。

④ 细胞保护: 在所有的文献报道中, 银杏内酯B对于细胞的保护作用, 报道最多。对于神经细胞、神经干细胞、脑细胞、心肌细胞、视网膜内皮细胞均有保护作用, 这一点也从细胞层面论证了其在改善记忆方面的功效^[46-49]。

银杏内酯B对心脏、脑、肝等脏器具有保护作用, 其作用与银杏内酯B的抗氧化作用密不可分^[50-52]。

⑤ 其他方面: 值得关注的是对CYP450酶系的影响, 银杏内酯B对大鼠肝CYP2C9无明显的抑制或诱导作用, 银杏内酯B注射液对大鼠体外肝微粒体CYP1A2酶活性无明显影响, 对CYP3A4有转录无诱导作用^[34, 53]。

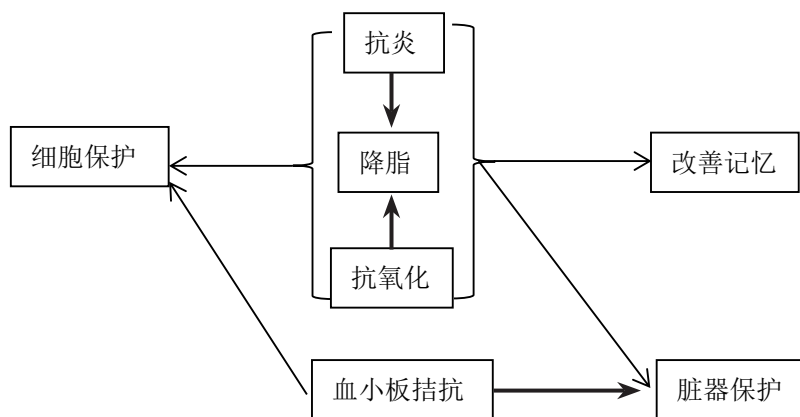


图10 银杏内酯B功效与作用机制简图

(3) 银杏内酯C: 能增加左心室内压力差, 增强心肌的收缩和舒张功能, 而对心率没有影响, 对心脏具有一定程度的正性肌力作用^[54]。

(4) 银杏内酯N: 其作用主要表现在对抗细胞损伤, 在对缺糖损伤、缺氧损伤、自由基损伤、咖啡因损伤、一氧化氮(NO)损伤及谷氨酸毒性损伤模型肾上腺嗜铬瘤克隆化细胞株(PC12)细胞缺血损伤均有显著的保护作用^[55], 同时在对抗神经元损伤上, 药理活性优于银杏内酯B^[56]。

(5) 银杏内酯K: 其主要作用体现在改善缺血性脑卒中, 对脑缺血再灌注损伤有保护作用^[57]。

(6) 白果内酯: 在文献报道中, 多表现为与其他银杏内酯的协同作用, 无单独作用方面的文献报道。白果内酯和银杏内酯B抗炎活性呈现多分子、多靶点和多通路特点^[58-59]。白果内酯在大鼠体内的绝对生物利用度为(56.2±4.4)%。白果内酯能诱导CYP3A4及CYP2B1的表达^[60-61]。

协同作用: 综合文献的报道, 银杏内酯的作用优于以上6种银杏内酯的单独作用, 其在拮抗血小板聚集和缺氧神经细胞损伤保护上均优于单独使用某一种银杏内酯的能力^[62-63]。

2.5 毒理学与安全性研究文献特征分析

银杏内酯成分是主要的活性成分, 目前已被制成单独成分的注射用制剂, 所以文献中对于银杏内酯的安全性研究很多, 就银杏内酯的毒理学研究结果看(见图11), 其在长期毒性、胚胎毒性、遗传毒、暴露量、安全性、代谢、过敏、不良反应、蓄积和半数致死量方面均显示安全可靠^[64-70]。

对于银杏叶黄酮单成分的不良反、过敏或过量服用的报道, 文献中没有提及。

从银杏内酯和银杏总黄酮研究文献报道来看, 安全性总体上是有保障的, 但偶有过量使用的风险。

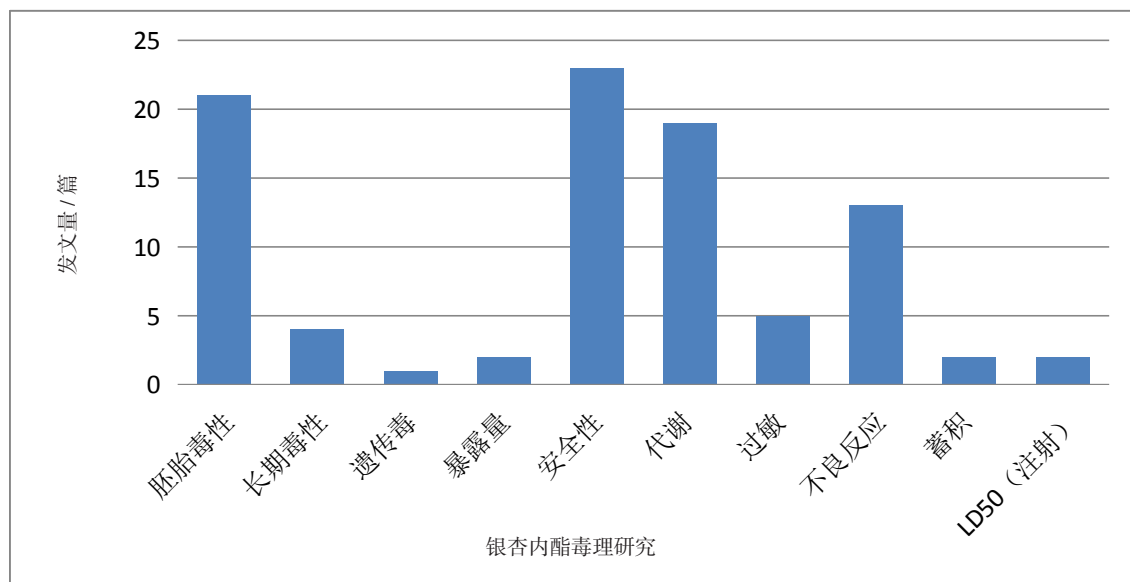
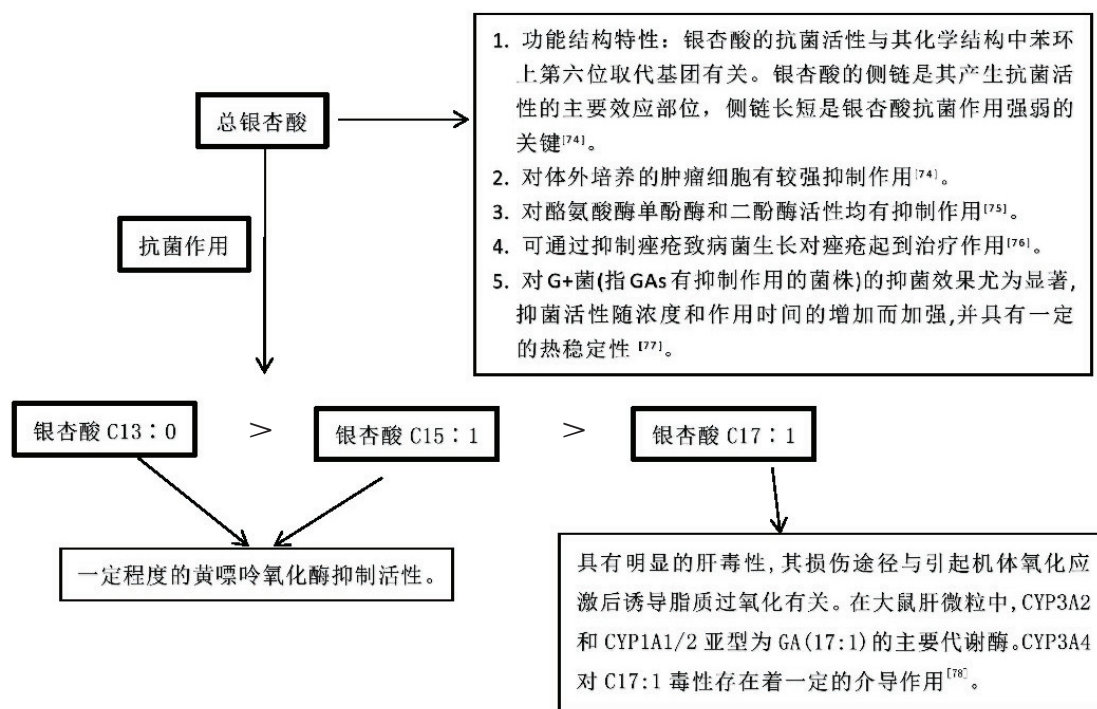


图 11 银杏内酯毒理作用文献研究统计

银杏酸是银杏叶中重要的毒性成分, 《中华人民共和国药典》^[71]、欧洲药典^[72]以及美国药典^[73]都对银杏叶提取物中银杏酸的含量有严格的限定。银杏酸是在苯丙氨酸途径下由6-烷基水杨酸或者6-烯基水杨酸衍生而来的一类衍生物。近年来的研究表明, 银杏酸属于细胞毒素, 过度食用的不良反应主要表现为腹痛、腹泻、过敏性皮炎以及意识丧失等不良反、严重的还会引起细胞毒性、胚胎毒性、免疫毒性、线粒体DNA损伤、诱变性和轻微的

神经毒性。

综合文献报道, 银杏酸除是重要的毒性成分外, 其抗菌作用也被诸多文献所提及。银杏酸分为总银杏酸、银杏酸单体C13:0、C15:1和C17:1。银杏酸的侧链, 即化学结构中苯环上第六位取代基团, 是其产生抗菌活性的主要效应部位, 侧链长短是抗菌作用强弱的关键^[74-79]。对银杏酸的毒理作用研究进行汇总, 见图12。



注：“>”相连接的排序，为银杏酸抗菌作用的强弱。

图12 银杏酸药理作用文献报道总结图

在急性毒性的文献研究^[80-84]中，采用SPF级ICR小鼠进行改良寇氏法的急性毒性试验，小鼠经口灌胃银杏酸后，死亡集中发生于给药后3~4天，LD₅₀为7.89 g·kg⁻¹·bw，95%置信区间为(7.19~8.68) g·kg⁻¹。另有研究采用清洁级昆明小鼠进行急性毒性试验，结果表明雄性小鼠灌胃和腹腔注射银杏酸的LD₅₀分别为2706和1650 mg·kg⁻¹·bw，雌性小鼠灌胃和腹腔注射银杏酸的LD₅₀分别为2429和1324 mg·kg⁻¹·bw。

在银杏酸的亚急性、亚慢性和慢性毒性，致突变性和遗传毒性，生殖发育毒性，神经毒性方面文献研究较少，诸多结论尚存在争议^[78,82-90]，未来对于银杏叶提取物的研究可在此方向进行更深

入的研究。

在银杏酸的毒性研究中，试验时给予剂量远高于《中华人民共和国药典》2020年版一部的5 ppm。且本研究团队认为各国药典对于标准中银杏酸5 ppm的限量已综合考虑了长期摄入导致蓄积等一系列可能存在的毒性风险。故质量标准中对于银杏酸的限量要求可满足银杏叶提取物使用安全性要求。

2.6 银杏叶提取物的质量关键项目

银杏叶提取物作为所有银杏叶类制剂统一使用的原料，对其提取工艺、有毒成分银杏酸的限制，是所有银杏叶类制剂质量标准中共同的控制要素，比较不同药典对于银杏叶提取物的质量标准，结果见表1。

表1 各国药典银杏叶提取物质量关键项目比较

质量标准项目	《中国药典》2020年版一部 ^[71]	美国药典 USP34 版 ^[73]	欧洲药典 10.0 版 ^[72]
含量测定:			
总黄酮醇苷	≥ 24%	22.0% ~ 27.0%	22.0% ~ 27.0%
萜类内酯	≥ 6%	5.4% ~ 12.0%	/
白果内酯	/	2.6% ~ 5.8%	2.6% ~ 3.2%
银杏内酯 A、B、C	/	2.8% ~ 6.2%	2.8% ~ 3.4%
检查(黄酮苷元峰面积):			
槲皮素:山奈酚	0.8 ~ 1.2	/	/
山奈酚:槲皮素	/	> 0.7	/
异鼠李素:槲皮素	> 0.15	> 0.1	/
芦丁	/	≤ 4%	/
槲皮素	/	≤ 0.5%	/
总银杏酸	≤ 5 ppm	≤ 5ppm	≤ 5ppm
指纹图谱:			
指纹峰	17 个	/	/
相似度	≥ 0.90	/	/

在银杏叶提取物的制备中,对成分的提取精制尤为关键,特别对于控制银杏酸的含量,目前,《中华人民共和国药典》2020年版^[71]一部中,对于“银杏叶提取物”的要求,银杏酸限量为小于5 ppm,与现行版欧洲药典^[72]和美国药典^[73]标准一致。较《中华人民共和国药典》2015年版中对“银杏叶提取物”中银杏酸的要求,更加严格了。《中华人民共和国药典》2015年版要求银杏叶提取物中银杏酸限量为小于10 ppm。就目前文献中关于银杏叶提取物的工艺看,乙醇提取后过大孔树脂柱或过聚酰胺柱,均可良好地控制终产物中银杏酸的含量。其他提取工艺如微波辅助提取、有机溶剂提取、树脂提取、超声辅助提取和超临界二氧化碳萃取等也可有效控制终产物银杏酸的含量^[91-95]。同时文献检索结果也表明,目前针对提取工艺中如何去除银杏酸的相关研究较少。

3 讨论

3.1 提取工艺的总结与展望

早期对于银杏叶的提取,集中在简单水煮或泡酒,随着银杏叶提取工艺的研究发展,发现保留银杏叶活性物质,去除有毒物质,才是银杏叶提取的关键。所以逐渐优化提取工艺,采用不同浓度的乙

醇提取,同时提取后过大孔树脂柱处理,以更好地保留有效成分,去除有毒成分。

目前银杏叶提取物成品的制备工艺大致分为两大类:一类是以《中华人民共和国药典》银杏叶提取物项下规定的提取方法,另一类是国外所多见的EGb761的提取方法。由于EGb761提取方法保密,故本文未能将其提取方式纳入参考范围。但这两种工艺制备的提取物活性成分和比例基本一致。

未来,如何更优质高效地对银杏叶进行提取,工艺仍可进一步优化改进。如目前提取工艺中,存在溶剂残留问题,对文献中提及的细胞培养法、酶法提取等工艺,是否可避免溶剂残留问题,可作为进一步研究的方向。

3.2 有效成分的总结与展望

银杏黄酮主要功效为抗氧化,在此基础上,进一步文献研究发现,其可防治再灌注损伤、降血脂、肝损伤保护、增强记忆以及免疫调节。银杏黄酮中抗氧化能力的排序:槲皮素>异鼠李素>山奈酚。

银杏内酯相关的药理学报道最多,不同种类的银杏内酯也被分离出来,并加以研究。银杏内酯以其强效的血小板拮抗作用被关注,进一步文献研究

发现其还有抗氧化、抗炎、改善记忆、心肌细胞保护及细胞损伤保护等作用。单独使用一种银杏内酯的效果不及使用总银杏内酯，同时银杏内酯的单独使用是安全可靠的。

在认识到银杏叶的有效活性成分后，其毒性成分银杏酸也逐渐被重视。其具有明显的肝毒性，也是目前银杏叶提取物中明确的限量毒性成分。

文献中一致认为，银杏叶提取物在抗氧化、血小板拮抗、细胞保护等诸多功效上，效果均优于银杏黄酮或银杏内酯，也是目前所有银杏叶类制剂统一使用的原料。

3.3 银杏叶提取物的研究方向展望

目前银杏叶的使用，可在保证其安全性的前提下，有效使用^[96]。对于银杏叶制剂的临床应用，多集中在心脑血管疾病上，近些年，对于其在糖尿病、细胞保护、脏器保护上的作用逐渐被发掘，从文献研究的总体研究趋势看，未来对于银杏叶提取物活性物质仍有待进一步挖掘和细化。

参考文献：

- [1] 张庆红, 王洪星, 谷洪燕. 银杏叶化学成分及提取分离研究概况[C]//山东省药学会. 山东省药学会第一届学术年会论文集(上). 济南: 山东省科学技术协会, 2005: 370-373.
- [2] 张晓娟, 赵正栋, 张辰露, 等. 复合酶预处理法对银杏叶总黄酮和总内酯提取率的影响[J]. 中成药, 2018, 40(8): 1848-1851.
- [3] 张玉祥, 邱蔚芬. CO₂超临界萃取银杏叶有效成分的工艺研究[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(4): 255-256.
- [4] 赵群莉. 微波预处理提取植物细胞中有效成分的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2003.
- [5] 周亚平, 徐芳, 叶发兵. 水浸提银杏黄酮苷工艺的多元回归分析[J]. 安徽农业科学, 2003(3): 389-390.
- [6] 庄玲华, 李晖. 银杏叶活性成分的提取分离研究概况[J]. 华西药学杂志, 2002(6): 437-439.
- [7] 禹利君, 王蝶, 刘素平, 等. 银杏叶总内酯超声提取工艺优化[J]. 湖南农业科学, 2009(12): 90-93.
- [8] 宋伟峰, 马奕斌, 李瑞明. 正交试验法优选银杏叶提取条件[J]. 中国药物经济学, 2012(5): 33-34.
- [9] 李春斌. 银杏组织、细胞悬浮培养及银杏黄酮和萜内酯的提取、纯化和检测方法研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2002.
- [10] 蔡锦源, 王萌璇, 韦坤华, 等. 银杏黄酮的提取及纯化方法研究进展[J]. 应用化工, 2017, 46(5): 982-985.
- [11] 李琦. 银杏叶黄酮化合物提取和纯化研究进展[J]. 当代化工, 2019, 48(4): 812-814, 818.
- [12] 马朝阳, 吕文平, 姜在祥, 等. 大孔树脂分离纯化银杏黄酮苷元的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2013, 44(1): 40-45.
- [13] 邱福祥, 谢懿涵, 阮威威, 等. 银杏叶黄酮的富集及抗氧化活性的研究[J]. 食品工程, 2018(4): 43-48.
- [14] 钦富华, 黄孝闻, 夏晓静, 等. 大孔吸附树脂法同时纯化银杏叶中黄酮苷和萜类内酯[J]. 广东药学院学报, 2013, 29(2): 142-146.
- [15] 秦俊哲, 高存秀. 不同大孔树脂对银杏酸的吸附分离特性研究[J]. 中国酿造, 2010(10): 142-145.
- [16] 李新岗, 陈薇, 韦玮, 等. 银杏叶中银杏内酯的提取方法[J]. 南京军医学院学报, 1997(1): 46.
- [17] 李新岗, 陈薇, 韦玮, 等. 银杏叶中银杏内酯的实验室提取方法研究[J]. 中国医药工业杂志, 1998(1): 7-8.
- [18] 刘康万. 银杏叶中银杏内酯A的选择性萃取分离及其稳定性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016.
- [19] 李辉, 王春连. 银杏叶提取物对糖尿病心肌影响的研究[J]. 黑龙江科技信息, 2017(4): 11.
- [20] 李红梅, 刘顺良, 姜静岩. 银杏叶提取物对心脑血管疾病的药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(2): 105-107.
- [21] 李珂, 姚平, 周绍良, 等. 银杏叶提取物对酒精所致大鼠睾丸氧化损伤的保护作用的研究[C]//中国疾病预防控制中心. 达能营养中心. 达能营养中心青年科学工作者论坛优秀论文集2005年第5期. 北京: 中国疾病预防控制中心. 达能营养中心, 2005: 5-8.
- [22] 贾亮, 王贵玲, 刘俊英. 银杏叶提取物在脑出血的应用进展[J]. 现代养生, 2013(24): 59.
- [23] 黄维玲. 银杏叶提取物对丙烯酰胺中枢神经毒性的保护作用及机制探讨[D]. 广州: 广东药科大学, 2017.
- [24] 冯靖, 彭效明, 李翠清, 等. 银杏叶黄酮的抗氧化性及其稳定性研究[J]. 食品科技, 2019, 44(4): 244-249.
- [25] 冯小龙. 银杏叶总黄酮抗肿瘤药效物质基础与药代动力学研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.

- [26] 李传勋, 周琴, 高广猷, 等. 银杏叶黄酮对高血脂大鼠血脂水平的影响[J]. 大连医科大学学报, 2001 (3): 179-180.
- [27] 李利平, 王全胜, 吴素焕, 等. 高纯度银杏黄酮注射液对记忆功能及心肌组织超氧化物歧化酶的影响(英文)[J]. 中国临床康复, 2006 (15): 171-173.
- [28] 任佳伟, 宋玉. 银杏叶有效成分抗血小板聚集和清除DPPH自由基的量效关系和协同作用[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2015, 17 (11): 2367-2372.
- [29] Lu S, Guo X, Zhao P. Effect of Ginkgo Biloba Extract 50 on Immunity and Antioxidant Enzyme Activities in Ischemia Reperfusion Rats[J]. *Molecules*, 2011, 16: 9194-9206.
- [30] Qiao ZY, Huand JH, Ma JW, et al. Ginkgo Biloba Extract Reducing Myocardium Cells Apoptosis by Regulating Apoptotic Related Proteins Expression in Myocardium Tissues[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41: 347-353.
- [31] 缪凌峰. 银杏叶提取物口服阳离子脂质体的制备及药代动力学研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [32] 黄平, 周兴卓, 毛坤军, 等. 银杏内酯药代动力学及其剂型的研究进展[J]. 广州化工, 2017, 45 (18): 3-5.
- [33] 高向东, 陈鹏, 刘俊彦, 等. 银杏内酯A对胆碱能神经功能损伤引起的SD大鼠学习记忆的促进作用[J]. 中草药, 2002 (4): 60-62.
- [34] 徐聪. CYP2B6体外诱导活性评价模型的建立和应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [35] 陈璟, 吕志, 汪洁, 等. 银杏总内酯在脑缺血损伤模型大鼠体内的PK-PD研究[J]. 中草药, 2018, 49 (4): 885-890.
- [36] Tsai JY, Su KH, Shyue SK, et al. EGb761 Ameliorates the Formation of Foam Cells by Regulating the Expression of SR-A and ABCA1: Role of Heme Oxygenase-1[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88: 415-423.
- [37] 杨鹏飞, 陈卫东. 银杏内酯B药理作用研究进展[J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31 (5): 86-90.
- [38] 聂珍贵, 王文杰. 银杏内酯B对大鼠多形核白细胞功能的影响[C]// 中国药理学会. 第七届全国生化药理学术讨论会论文摘要集. 大连: 中国药理学会, 2000.
- [39] 杜方. 银杏内酯B的药理性预适应对星形胶质细胞缺血损伤的作用机制[D]. 南通: 南通大学, 2006.
- [40] 郝莉, 徐玉英, 田新红, 等. 银杏内酯B对阿尔茨海默病大鼠海马c-fos、Caspase-3和Caspase-8的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15 (7): 798-801.
- [41] 黄镇, 金国华, 张新化, 等. 银杏内酯B对成年大鼠神经干细胞向神经元分化的促进作用[J]. 解剖学报, 2003, 34 (4): 367-371.
- [42] 姜宁玲, 秦正敏, 付先利, 等. 银杏内酯B对中脑神经细胞损伤的保护作用[J]. 江苏医药, 2014, 40 (16): 1868-1870.
- [43] Li S, Zhang X, Fang Q, et al. Ginkgo Biloba Extract Improved Cognitive and Neurological Functions of Acute Ischemic Stroke: A Randomized Controlled Trial[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2017, 2 (4): 189-197.
- [44] 许惠琴, 刘成鼎, 韦敏, 等. 银杏内酯B衍生物抗血小板聚集作用和作用机制研究[C]//中国中西医结合学会. 2009年全国中药学术研讨会论文集. 贵阳: 中国中西医结合学会, 2009: 355-361.
- [45] 宋先兵, 陈晓宇. 银杏内酯B对大鼠脑缺血-再灌注的保护作用研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35 (8): 1097-1099.
- [46] 聂珍贵, 彭珊璞, 王文杰. 银杏内酯B对脂多糖刺激的小鼠腹腔巨噬细胞TNF α 生成及大鼠胸腔多形核白细胞NF- κ B活化的影响[J]. 药学学报, 2004, 39 (6): 415-418.
- [47] 孟晶, 丁小燕, 朱晓波, 等. 银杏内酯B对体外培养的视网膜神经细胞内钙离子浓度和线粒体功能的影响[C]//暨南大学《中国病理生理杂志》. 2009年国际病理生理学教学研讨会论文集. 上海: 暨南大学《中国病理生理杂志》, 2009.
- [48] 马骏, 季亢挺, 南金良, 等. 银杏内酯B对内皮祖细胞氧化损伤的保护作用及机制研究[C]//浙江省科学技术协会. 第五届钱江国际心血管病会议暨2011浙江省心血管病年会论文集. 杭州: 浙江省科学技术协会, 2011: 32-38.
- [49] 李亮. 银杏内酯B对H₂O₂诱导H9c2心肌细胞氧化应激损伤的影响[J]. 现代中药研究与实践, 2016 (5): 20-24.
- [50] 杨桂林. 银杏内酯B对阿霉素心脏毒性的体内外保护作用及其相关机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [51] 张根葆, 陈冬云, 桂常青, 等. 银杏内酯B对缺血再灌注大鼠心脏保护作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2005, 12 (2): 92-94.
- [52] 黄曼, 胡悦育, 徐秋萍, 等. 银杏内酯B对脑出血大鼠

- 神经细胞凋亡的影响[J]. 中华急诊医学杂志, 2011, 20(11): 1157-1161.
- [53] 周涛, 王宇光, 马增春, 等. 银杏内酯B通过激活孕烷X受体诱导CYP3A4的表达[J]. 中国药理学通报, 2014(7): 926-931.
- [54] 赵婷, 盛宁, 苏中平, 等. 银杏内酯B、C及联合用药预处理对大鼠心肌缺血/再灌注心功能的影响[J]. 徐州医学院学报, 2014, 34(1): 18-21.
- [55] 马舒伟, 王丽艳, 张文治, 等. 银杏内酯N对PC12细胞缺血性损伤的保护作用[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(9): 2409-2412.
- [56] 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): 141-144.
- [57] 马舒伟, 张现涛, 何盛江, 等. 银杏叶内酯K对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(13): 993-997.
- [58] 刘勇林, 张成标, 李保民, 等. 白果内酯对大鼠动脉血压影响的研究[J]. 陕西中医, 2011, 32(4): 491-492.
- [59] 苗强. 白果内酯对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠的抗炎和免疫调节作用研究[D]. 晋中: 山西中医药大学, 2019.
- [60] 唐远鹏. 白果内酯耐缺氧、抗疲劳、抗氧化作用的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [61] 唐远鹏, 曾靖, 黄起壬. 白果内酯药理作用的研究[J]. 赣南医学院学报, 2015(1): 153-155.
- [62] 刘秀萍, 邓方. 银杏内酯和白果内酯对大鼠脑缺血再灌注损伤后VEGF的表达的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2015(2): 108-111.
- [63] 孙莉莎, 杨淑琴, 徐江平, 等. 银杏内酯对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[C]//中国药学会. 中国药学会学术年会论文集. 桂林: 中国药学会学术会务部, 2002: 396-398.
- [64] 刘霆. 银杏内酯软胶囊毒理学研究[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 13(6): 24-27.
- [65] 屈文. 银杏内酯B粉针剂大鼠生育力及胚胎-胎仔发育毒性研究[J]. 毒理学杂志, 2018, 32(4): 340-342.
- [66] 盛小伍. 银杏内酯B诱导胚胎干细胞定向分化为心肌细胞的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2008.
- [67] 黄凤娇, 李燕, 李继洪. 银杏内酯B注射液对大鼠生育力及早期胚胎发育毒性研究[J]. 药物评价研究, 2019(4): 653-657.
- [68] 黄凤娇, 王平慧, 吴森, 等. 银杏内酯B注射液的大鼠胚胎-胎仔发育毒性研究[C]//中国药学会. 2016年中国药学会大会暨第十六届中国药师周论文集. 北京: 中国药学会, 2016: 637-641.
- [69] 黄晓舞, 梅世昌, 李外. 银杏内酯B注射液对Beagle犬的长期毒性研究[J]. 中国药房, 2008(30): 2338-2341.
- [70] 吉新彩. 银杏叶提取物对大鼠急性分离海马神经元NMDA-激活电流的调制作用[D]. 大连: 大连医科大学, 2005.
- [71] 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2020: 434-436, 1612-1617.
- [72] 欧洲药典委员会. 欧洲药典(10.0版)[M]. 斯特拉斯堡: 欧洲药品质量理事会卫生保障局, 2020: 1451-1453.
- [73] 美国药典委员会. 美国药典(2020年版)[M]. 巴尔的摩: 美国联合图书出版社, 2020, USP43-NF38: 5037-5038, 5041.
- [74] 邵泽艳, 姜艳秋. 银杏酸的药理作用及银杏叶提取物脱酸方法研究进展[J]. 乡村科技, 2018(11): 111-113.
- [75] 龚盛昭, 张凯, 孙永. 总银杏酸对酪氨酸酶活性的影响及动力学研究[J]. 精细化工, 2015, 32(4): 443-446.
- [76] 张秀丽, 杨小明, 夏圣, 等. 银杏酸对痤疮致病菌的抑制作用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2007, 17(6): 523-525.
- [77] 杨小明, 叶允荣, 王萍, 等. 银杏叶提取物和银杏酸的抗菌活性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(4): 68-71.
- [78] 沈琦, 李贺, 廉洪, 等. 银杏酸对大鼠肝毒性的影响研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(12): 1457-1459, 1462.
- [79] Hecker H, Johannisson R, Koch E, et al. In Vitro Evaluation of the Cytotoxic Potential of Alkylphenols from Ginkgo Biloba L[J]. Toxicology, 2002, 177(2-3): 167-177.
- [80] Yiyun Qian, Shulan Su, Min Wei, et al. Interactions of Pharmacokinetic Profiles of Ginkgotoxin and Ginkgolic Acids in Rat Plasma After Oral Administration[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 163

- (163): 88-94.
- [81] Yao Qingqing, Li Li, Xu Mingcheng, et al. The Metabolism and Hepatotoxicity of Ginkgolic Acid(17: 1) in Vitro[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2018 (11): 829-837.
- [82] 钱怡云. 白果复合毒性物质基础及其减毒机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [83] 何静仁. 银杏酸的变应原性及致过敏作用机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.
- [84] G Baron-Ruppert, N-P Luepke. Evidence for Toxic Effects of Alkylphenols from Ginkgo Biloba in the Hen's Egg Test (HET) [J]. Phytomedicine, 2001, 8 (2): 133-138.
- [85] Yiyun Qian, Yunru Peng, Erxin Shang, et al. Metabolic Profiling of the Hepatotoxicity and Nephrotoxicity of Ginkgolic Acids in Rats Using Ultra-Performance Liquid Chromatography-high-definition Mass Spectrometry[J]. Chemico-Biological Interactions, 2017, 273 (273): 11-17.
- [86] Cynthia V Rider, Abraham Nyska, Michelle C Cora, et al. Toxicity and Carcinogenicity Studies of Ginkgo Biloba Extract in Rat and Mouse[J]. Toxicologic Pathology, 2014, 42 (5): 830-843.
- [87] Westendorf J, Regan J. Induction of DNA Strand-breaks in Primary Rat Hepatocytes by Ginkgolic Acids[J]. Die Pharmazie, 2000, 55 (11): 864-865.
- [88] Barbara Ahlemeyer, Dagmar Selke, Christine Schaper, et al. Ginkgolic Acids Induce Neuronal Death and Activate Protein Phosphatase Type-2C[J]. European Journal of Pharmacology, 2001, 430 (1): 1-7.
- [89] 房仙颖, 谢莹莹, 章祎唯, 等. 银杏酸毒副作用及朴树提取物对其减毒效果研究[J]. 林产化学与工业, 2020 (6): 99-106.
- [90] Hausen BM. The Sensitizing Capacity of Ginkgolic Acids in Guinea Pigs[J]. American Journal of Contact Dermatitis: Official Journal of the American Contact Dermatitis Society, 1998, 9 (3): 146-148.
- [91] 曹涛. 银杏叶、种实中银杏酸积累规律及减毒方法研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- [92] 刘茜倩, 刘伶文, 王晓军, 等. 超声-溶剂萃取去除银杏叶提取物中的银杏酸[J]. 纺织高校基础科学学报, 2021 (1): 108-113.
- [93] 陈晓英, 郑若男, 陈梁军. 银杏叶中银杏酸的提取工艺及质量研究[J]. 福建教育学院学报, 2019 (4): 126-128.
- [94] 张思珏. 银杏酸的药理毒理作用及脱酸方法研究进展[J]. 中国社区医师, 2019 (8): 16-17.
- [95] 徐京, 吴元锋, 徐超奕, 等. 溶剂萃取法脱除银杏酸工艺研究[J]. 浙江科技学院学报, 2018 (5): 370-374, 385.
- [96] 国家药品监督管理局. 国家药监局关于修订银杏叶片等口服制剂说明书的公告 (2020年第1号) [EB/OL]. (2020-01-13) [2021-10-12]. http://www.cdr-adr.org.cn/drug_1/aqjs_1/drug_aqjs_smss-ggg/202001/t20200113_47040.html. 2020-01-13.

(收稿日期 2021年12月17日 编辑 王雅雯)