

银杏叶及其制剂的质量研究

丁青龙 王云征 顾卫忠 赵 勇 刘树东¹ 黄玉昌¹(解放军第 102 医院,常州 213003;¹南京中医药大学,南京 210000)

摘要 目的:对银杏及其制剂质量的系列研究。方法:①采用酸水解-液相色谱法,测定了不同季节银杏叶内、雌雄银杏树叶内、不同土质生长的银杏树叶内、不同部位银杏树内黄酮的含量;②采用紫外法对数家药厂银杏制剂片剂的含量及稳定性进行了研究。结果:①黄酮含量差异很大;②部分厂家银杏片剂的总黄酮含量低得惊人,为不合格产品。结论:稳定性研究结果:片剂有效期为 2.3 年。

关键词 银杏叶;含量;片剂

The study of *Ginkgo Biloba* Flavontrin and its preparation

Ding Qinglong(Ding QL), Wang Yunzhen(Wang YZ), Gu Weizhong(Gu WZ), et al (PLA 102 Hospital, Changzhou 213003)

ABSTRACT OBJECTIVE: Series study of *Ginkgo Biloba* and its preparation. **METHODS:** 1. using the method of acidolysis-HPLC, the content of flavontrin in *Ginkgo's* leaf, branch, trunk, bud, male and female tree, which were collected in different soil and season, was determined. 2. the content of *Ginkgo Biloba* flavontrin in tablet produced by 5 pharmaceutical factory were also determined by UV. **RESULTS:** 1. the result differ greatly. 2. the content of flavontrin in three tablet were very low. **CONCLUSION:** Study of tablet's stability shows: its validity was 2.3y.

KEY WORDS *Ginkgo's* leaf, tablet, determination

银杏树,又名白果树,公孙树,其叶、茎、皮和根部含黄酮类和二萜内酯类,具有改善心脑血管循环,抑制血小板凝聚酶、抗菌、抗病毒、抗癌等作用。近年来,法、德等国相继研制出银杏叶提取物的各种制剂,成为欧洲老年病用药畅销药品。我国银杏资源十分丰富,占世界 70%。已有数家药厂或单位研制出银杏叶提取物的各种制剂投放市场。但系列研究不多。为此,我们对银杏叶及其制剂的质量进行初步系列研究,现报告如下。

1 银杏黄酮生态变化的研究

采用在联邦德国举行的三十九届药用植物研究会上提出的酸水解高效液相色谱法,测定了同一株银杏叶、芽、茎和树皮中黄酮含量的分布,不同季节的银杏叶内黄酮含量的变化。探讨了雌雄异株和土质对银杏叶内黄酮含量的影响。结果见表 1,2,3 和 4。

2 不同厂家银杏叶提取物片剂中的总黄酮含量测定

2.1 仪器与试剂、药品

表 1 不同季节的银杏叶内黄酮含量的变化

采样时间	外观颜色	含量(%)
5月中旬	绿黄色	1.71
6月中旬	黄绿偏绿	0.86
7月中旬	黄绿色	0.92
8月中旬	黄绿偏绿	0.76
9月中旬	绿色	0.70
10月中旬	黄色	0.68
11月中旬	黄色	0.64

表 2 雌雄银杏树叶内黄酮含量

采样时间	树种	颜色	含量(%)
10月上旬	雌树	绿色	0.74
10月上旬	雄树	绿色	0.57

UV-300(日立):752C 分光光度计(上海第三分析仪器厂);恒温水浴锅(上海器械五厂);5%亚硝酸钠溶液;10%硝酸铝溶液;4%氢氧化钠溶液;芦丁标准

表3 不同土质生长的银杏叶内黄酮含量

采样时间	土质	颜色	含量(%)
10月上旬	沃土	绿色	0.70
10月上旬	沙土	黄绿偏绿色	0.52

表4 银杏树不同部位的黄酮含量

种 类	取样量	定容体积(ml)	含量(%)
树皮	4	50	0.029
树干	3	50	0.008
芽枝	4	50	0.046
树芽	4	50	0.56

品(中国药品生物制品检定所)样品:A:天保宁片(浙江康恩贝制药公司);B:宁波某厂片剂;C:深圳某厂片剂;D:桂林某厂片剂;E:上海某厂片剂。

2.2 测定方法

2.2.1 标准液的配制:精密称取芦丁标准品 14.81mg,置 50ml 容量瓶中,并加入 70%乙醇溶解至刻度,摇匀备用。

2.2.2 样品处理:分别取不同厂家银杏叶片剂 10 片,去包衣,精密称定,求出平均片心重量,研细,混匀,置

表5 加样回收试验结果

已知样品量(mg)	加标准品量(mg)	吸收度(A)	总黄酮(mg)	回收率	$\bar{x} \pm S$	CV(%)
8.31	8.30	0.431	16.58	99.64	100.23 ± 0.895	0.89
	8.30	0.432	16.62	100.12		
	8.30	0.433	16.66	100.60		
	8.32	0.437	16.82	102.28		
9.67	9.70	0.501	19.35	99.79	100.23 ± 0.895	0.89
	9.70	0.500	19.33	99.59		
	9.72	0.502	19.40	100.10		
	9.72	0.501	19.36	99.69		

2.2.6 稳定性试验:按上述方法测定同一批样品在不同时间的吸收度,结果表明 30min 内无变化。

2.2.7 样品测定:精密吸取样品液 5ml,按标准曲线绘制项下进行,于 509nm 测吸收度,结果见表 6。

表6 不同厂家银杏叶片剂中总黄酮的含量测定

编号	厂 家	平均片心重(mg)	A 值	每片总黄酮含量(mg)
A	浙江某厂	213.98	0.419	9.67
B	宁波某厂	233.85	0.377	8.67
C	深圳某厂	180.28	0.360	8.27
D	桂林某厂	451.40	0.336	7.67
E	上海某厂	274.27	0.343	7.82

3 银杏叶提取物——天保宁片的稳定性研究

3.1 仪器、试剂与药品及测定方法同 2。

50ml 量瓶中,加入 70%乙醇 40ml,水浴回流 2h,过滤至 50ml 量瓶中,滤渣用 70%乙醇洗涤,洗液并入滤液中,加 70%乙醇至刻度摇匀。精密吸取 5ml,置另一 50ml 量瓶中,加 70%乙醇至刻度。摇匀备用。

2.2.3 测定波长选择:以芦丁为对照品测定该药中总黄酮含量,通过加入亚硝酸钠、铝离子及控制适宜的 pH 值,可获得较稳定的特征吸收峰,经试验在 400 ~ 600nm 波长范围内扫描,样品与对照品有相同的吸收,最大吸收波长 509nm 作为定量测定波长。

2.2.4 标准曲线:精密吸取对照液 0.0,1.0,2.0,3.0,4.0 和 5.0ml,分别置 25ml 量瓶中,加入 5%亚硝酸 1.0 ml 摇匀,放置 6min,再加入 4%氢氧化钠 5ml,以 70%乙醇定容,摇匀,放置 15min,于 509nm 处测定吸收度,以 0 管作空白,结果表明:芦丁对照品在 0.01184 ~ 0.07104 mg/ml 范围内符合比尔 - 朗伯定律,线性关系良好,回归方程 $c = 0.09482A - 0.00107$, $|r| = 0.9999$ 。

2.2.5 加样回收试验:由于本品为中药制剂,成分复杂,故做加样回收试验,取批号(950815)相同的样品测定总黄酮含量,然后再加入不同量的芦丁作为对照品,溶液按标准曲线绘制项同法测定,测定结果见表 5。

3.2 天保宁片恒温加速试验

3.2.1 样品处理:将天保宁片密塞于洁净的 100ml 输液瓶中,分 4 组,每组 4 瓶,每瓶 20 片,分别置于 60,70,80 和 90℃恒温水浴中定时取样,快速冷却备用。

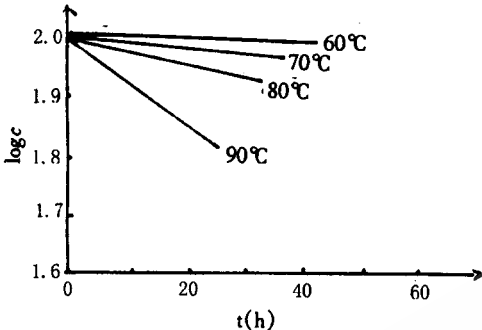
3.2.2 零时样品吸收度的测定:取天保宁片 10 片,按“2”中同样处理,于 509nm 测吸收度。

3.2.3 即时样品吸收度的测定:将处理过的样品按上述测定,结果见表 7。以图解法确定反应级数,根据表 7 各恒温条件下的加热时间与含量的变化,以 $\log e - t$ 作图,显示为直线,说明其变化过程符合一级降解反应(见附图)。

3.2.4 相对含量的计算、各时间的相对含量按下式计算: $c = \text{即时样品吸收度} / \text{零时样品吸收度} \times 100\%$ 。

表 7 不同恒温条件下天保宁片中黄酮测定结果

60℃				70℃				80℃				90℃			
T(h)	A	C(%)	logC	T(h)	A	C(%)	logC	T(h)	A	C(%)	logC	T(h)	A	C(%)	logC
0	0.4256	100	2	0	0.4256	100	2	0	0.4256	100	2	0	0.4256	100	2
42	0.4157	97.67	1.9898	17	0.4095	86.22	1.9833	5	0.4120	96.80	1.9859	8	0.4048	85.11	1.978
62	0.4100	96.88	1.9838	82	0.4000	88.98	1.9731	15	0.8912	91.82	1.9634	8	0.8668	76.67	1.9354
82	0.4069	95.61	1.9805	47	0.8765	88.46	1.9468	25	0.8803	89.86	1.9511	18	0.8263	76.68	1.8846
102	0.4009	94.20	1.9740	62	0.8782	87.68	1.9429	88	0.8464	81.86	1.9106	18	0.8148	78.85	1.8683



附图 各恒温条件下天保宁中黄酮含量的变化

3.2.5 K 值计算:根据表 7 各恒温条件下,不同加热时间与相对浓度的对数进行处理,求得各直线的斜率,进而求得相应的反应速度常数 K 值。结果见表 8。

表 8 不同恒温条件下天保宁片中黄酮数据的线性回归

T(℃)	回归方程	r	斜率	K 值
90	$\lg C = -0.0076t + 2.00018$	0.9895	-0.0576	0.0175028
80	$\lg C = -0.0024t + 2.00012$	0.9837	-0.0024	0.0054581
70	$\lg C = -0.0009t + 2.00019$	0.9833	-0.0009	0.0022569
60	$\lg C = -0.0003t + 2.00002$	0.9977	-0.0025	0.0005758

3.2.6 求室温 25℃ 时的 K 值:将表 8 中的有关数据进行处理后见表 9,对表 9 的数据进行线性回归,得回归方程为: $\lg K = 14.4232 - 5874.2721 \times 1/T$ 。

表 9 天保宁片中黄酮温度与反应速度常数对照表

TK	$1/T \times 10^{-3}$	logK
363	2.7548×10^{-3}	-1.7569
353	2.8329×10^{-3}	-2.2630
343	2.9155×10^{-3}	-2.6465
333	3.003×10^{-3}	-3.2398

$|r| = 0.9975$

根据此方程计算出室温 25℃ 时反应速度 $K = 5.139 \times 10^{-6}$ 。

3.2.7 室温 25℃ 时的有效期计算: $T_{0.9} = 0.105 / [5.139 \times 10^{-3} \times 24 \times 365] = 2.3$ 年。

4 讨论与总结

4.1 银杏叶黄酮含量随季节变化,5,6,7 月份含量较高,8 至 11 月份含量逐渐降低,但 11 月份落地黄叶内黄酮含量比 8 月份仅低 20% 左右,有很大的实用价值。

4.2 银杏树的干,皮,枝,芽中黄酮含量依次增加,雌树叶内含量比雄树叶高,沃土树较沙土树叶的含量高。

4.3 硝酸铝作为黄酮类比色测定的显色剂,主要是黄酮母核中含有碱性氧原子,一般又多带酚羟基,能与 AL 产生黄色络合物,在 NaNO_2 的碱性溶液中呈红橙色,显色后应及时测定,超过 20min 对测定结果有影响。

4.4 目前银杏叶制剂的开发席卷全国,众多厂家争报新药,遗憾的是多为低水平的重复与仿制,本研究 5 个厂家生产的银杏片剂均是每片中含总黄酮 9.6mg,中国药典规定中成药中主要成份的含量一般控制在百分含量的 $\pm 10\%$ 范围内,根据这一标准对 5 个厂家生产的银杏提取物片剂进行了含量测定,康恩贝集团天保宁片含量最高,符合药典标准。其它 3 个厂家含量达不到标准,D 厂,E 厂含量低的惊人,分别为 79.90%,81.46%,严重影响了临床疗效,建议有关部门应高度重视,严格把住生产关,提供合格产品,保证临床用药安全,有效。

4.5 采用恒温加速试验法对银杏叶提取物天保宁片剂稳定性研究,其结果为 2.3 年。

4.6 本文采用紫外法对银杏提取物片剂进行了含量测定,稳定性研究,此法准确,快速,简便,灵敏度高,其回收率为 100.23%,CV0.89%。此方法适用于中基层单位研究生产银杏制剂的有效质控方法。

参考文献

1 沙怀,陈桂先,马莉.银杏叶中总黄酮的提取与测定.中国药房,1995,6(5):13.
2 刘重芳.银杏叶中有效成份的提取和测定.中成药,1995,17(5):40.

收稿日期:1998-01-22