

不同采收期银杏叶总内酯及黄酮甙的含量测定

蒋明廉

(广西壮族自治区广西植物研究所, 桂林 541006)
中国科学院

摘要 采用 HPLC 法对不同采收期银杏叶总内酯及黄酮甙含量进行测定, 结果表明, 八至九月采收的银杏叶总内酯及黄酮甙含量均较高。

关键词 银杏叶; 总内酯含量; 黄酮甙含量

DETERMINATION OF GINKGOLIDES BILOBALIDE AND FLAVONOL GLYCOSIDES IN GINKGO BILOBA LEAVES COLLECTED IN VARIOUS MONTHS

Jiang Minglian

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Academia Sinia, Guilin 541006)

Abstract The HPLC determination of the total ginkgolides bilobalide and total flavonol glycosides in the leaves of *Ginkgo biloba* collected from July to December is described. The results show that *Ginkgo biloba* leaves collected from August to september have the highest contents.

Key words *Ginkgo biloba* L.; Ginkgolide bilobalide; flavonol glycosides

银杏树 (*Ginkgo biloba* L.) 为银杏科银杏属植物。早在六十年代, 德国用银杏叶提取物 (EGb761) 制剂治疗老年性脑功能障碍, 脑损伤后遗症等, 疗效显著; 国内用银杏叶提取物治疗冠心病、高血脂症等, 也取得一定疗效^[1]。银杏叶总内酯及黄酮甙是银杏叶的主要有效成分, 不同采收期银杏叶总内酯、黄酮甙含量变化相差较大。目前, 有关这方面的报道仅限于考察黄酮甙含量变化^[2~5]或单一考察总内酯的含量变化^[6, 7]。本文采用 HPLC 法, 对生长于广西桂林市雁山广西植物研究所白果园同一株树龄为 15 a 的实生银杏树叶, 同时测定不同采收期总内酯和黄酮甙的含量变化, 为提高银杏叶提取物的质量及收率, 确定银杏叶的最佳采收期提供参考依据, 现将实验结果报告如下。

1997-04-21 收稿

作者简介: 蒋明廉, 男, 1962 年出生, 主管中药师, 主要从事中药及药用植物的研究开发。

1 样品、仪器与试剂

1.1 样品

银杏叶：于 1996 年 7 月至 12 月采自生长于广西桂林市雁山广西植物研究所白果园内同一株树龄为 15 a 的实生银杏树叶，采回后自然晾干水分，并在 60 °C 左右烘干、研碎过 20 目筛，备用。

1.2 仪器

美国 Waters 公司高效液相色谱仪、510 泵、810 色谱工作台、U6K 手动进样器、Waters 可编程紫外检测器、示差检测器、梅特勒 AT200 电子天平。

1.3 试剂

槲皮素对照品（中国药品生物制品检定所）、银杏内酯 A、B、白果内酯（美国 Sigma 公司）、甲醇（色谱纯、Millipore HA0.45 μm 滤膜过滤）、磷酸（分析纯）。

2 方法与结果

2.1 银杏总内酯的含量测定^[3, 8]

2.1.1 色谱条件 流动相：水：甲醇（67：33）、流速 1.0 ml/min，柱温：25 °C，进样体积 10 μl，理论塔板数按银杏内酯 A 计算应不低于 6000，示差检测器检测，色谱柱：Spherisorb Rb-18（10 μm）（25 cm×0.4 cm 内径）。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取银杏内酯 A、B 和白果内酯各 5 mg，分别置于 3 个 5 ml 容量瓶中，加甲醇溶解至刻度、摇匀，即得（每 1 ml 含银杏内酯 1 mg），临用时新鲜配制。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取经研碎、烘干的银杏叶 10 g 于 50 ml 圆底烧瓶中，每次加入 100 ml 30% 乙醇，在水浴上重复提取二次，每次 1 h，提取液合并，过滤减压浓缩至 50 ml 左右，冷却后上至装有 10 g 聚酰胺柱上吸附，先用 300 ml 蒸馏水洗，再用 300 ml 15% 乙醇洗，水洗液直接上至另一根装有 20 g 大孔树脂柱上，15% 乙醇洗脱液挥发乙醇后也一并上至该大孔树脂柱上吸附，吸附完全后，用 200 ml 蒸馏水和 300 ml 70% 乙醇相继洗脱，水洗液弃去，收集 70% 乙醇洗脱液，回收乙醇后，用 HCl 调 pH 3~4，用醋酸乙酯萃取 5~6 次，回收醋酸乙酯。并抽干至无醋酸乙酯气味，用甲醇定容至 20 ml，为供试品溶液。

2.1.4 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl，按上述色谱条件测定，示差检测器检测，按计算公式：内酯含量 % = 样_A × 对_W × 样_V / 对_A × 对_V × 样_W 计算样品中总内酯（银杏内酯 A、B、C 和白果内酯之和）的含量，其中银杏内酯 C 无对照品，对照标准图谱定位，根据分子量相似原理，以银杏内酯 B 作对照，测定结果列于表 1。

2.2 银杏黄酮甙的含量测定^[9, 10]

2.2.1 色谱条件 流动相：甲醇：水：磷酸（55：45：0.5），流速：1.0 ml/min，柱温：25 °C，进样体积：

表 1 不同采收期银杏叶总内酯及黄酮甙含量测定结果 (n=3)

Table 1 Determination data of the total ginkgolides bilobalide and total flavonol glycosides in ginkgo biloba leaves collected in various months (n=3)

采收日期	外观色泽	总内酯含量 (\bar{x} , %)	黄酮甙含量 (\bar{x} , %)
1996-07-31	绿	0.129	0.68
1996-08-29	绿	0.201	0.73
1996-09-30	绿	0.211	0.75
1996-10-15	绿	0.173	0.65
1996-11-15	黄	0.089	0.60
1996-12-1(黄(落叶))		0.031	0.62

10 μm , 检测波长 370 nm, 理论塔板数按槲皮素计算应不低于 6000, 色谱柱: Spherisorb Rb-18 (10 μm) (25 cm \times 0.4 cm 内径)。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素对照品 4.0 mg, 置 100 ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度、摇匀, 即得 (每 1 ml 含槲皮素 0.04 mg), 用时新鲜配制。

2.2.3 供试品溶液的制备 称取已烘干研碎的银杏叶 300 mg 于 100 ml 锥形瓶中, 加入 30 ml 甲醇, 再加入 5 ml 25% 盐酸溶液, 在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中回流提取 2 h, 冷却, 过滤至 50 ml 容量瓶中, 甲醇定容至刻度、摇匀、备用。

2.2.4 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 ml, 按上述色谱条件测定, 紫外检测器检测, 按计算公式: 黄酮甙含量 % = $A_{\text{样}} / (Q + K + I) \times 2.51 \times 0.04 \times 50 / A_{\text{对}} \times 300$ 计算样品中黄酮甙含量 (其中 Q: 槲皮素, K: 山奈酚, I: 异鼠李素), 测定结果见表 1。

3 讨 论

(1) 从样品测定结果可以看出, 同一株银杏树叶不同采收期银杏总内酯及黄酮甙含量变化差异较大, 随着银杏叶生长, 总内酯及黄酮甙含量增高, 银杏总内酯到 9 月份达到最高, 随后即迅速下降, 落叶时降至最低; 黄酮甙至 9 月份达到最高, 随后略有下降, 综合两个指标, 8~9 月份采收的银杏叶总内酯及黄酮甙含量均较高, 可作为采收药用银杏叶的参考依据。

(2) 经与国内外有关研究报告对照, 各地测定的银杏叶总内酯及黄酮甙含量结果相差较大, 除各自测定方法的准确度或系统误差外, 银杏总内酯及黄酮甙是否与各地的土壤、气候、环境及银杏树的品种、性别、树龄等因素相关, 还需做大量的实验研究和统计分析工作。

致谢: 本研究得到本所成桂仁研究员指导, 本所植化室李典鹏、仪器室方宏同志协助测定工作, 在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 杨义芳, 颜 锋. 银杏叶及其制剂的开发应用近况. 中成药, 1995, 17 (11): 40~41
- 2 A, Lobstein. Seasonal variations of the flavonoid content from *Ginkgo biloba* leaves. *Planta Med*, 1991, 57: 430~433
- 3 A. Hasler, Sticher O Meier B. Identification and determination of the flavonoids from *Ginkgo biloba* by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1992, 605: 41~48
- 4 庄向平, 虞杏英, 杨更生等. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法. 中草药, 1992, 23 (3): 122
- 5 陈秀珍. 银杏叶不同生长期总黄酮的含量测定. 广西植物, 1988, 8 (4): 363~364
- 6 Teris A van Beek, Gerrit P Lelyreld. Concentration of Ginkgolides and Bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves in Relation to the time of year. *Planta Med.* 1992, 58: 413~416
- 7 虞杏英, 庄向平, P. Braquat, 等. 高效液相色谱分析银杏叶中的银杏内酯 B. 药物分析杂志, 1993, 13 (2): 85
- 8 Sticher O. Quality of Ginkgo Preparations. *Planta Med.* 1993, 59 (1): 2~11
- 9 谢大年, 郭兆贵. 银杏叶提取物中黄酮类成分的高效液相色谱分析. 色谱, 1994, 12 (5): 384~385
- 10 李典鹏, 方 宏. 高效液相色谱法测定银杏叶提取物中黄酮甙含量. 广西植物, 1996, 16 (3): 292~294