

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2018.06.005

银杏叶中银杏内酯的制备与检测研究进展

杨世龙, 马小芳

(南京林业大学 现代分析测试中心, 江苏 南京 210037)

摘要:银杏内酯是银杏叶提取物的主要组成部分,是银杏特有的化学成分,具有多种生物活性,但由于其含量低,研究较少。本文综述了银杏萜类内酯的提取方法、分离纯化方法,以及检测方法。通过选取合适的溶剂和提取方法,综合柱色谱分离、溶剂萃取法等分离操作,可以得到银杏内酯含量较高的提取物,再采用结晶法,高速逆流色谱等方法,可以得到更高纯度的银杏内酯,甚至可以得到银杏内酯单体,对银杏药物的开发有重大意义。

关键词:银杏内酯;银杏叶;提取;分离;检测

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1003-5508(2018)06-0025-06

The Research Progress on the Preparation and Detection of Ginkgolides in *Ginkgo biloba* Leaves

YANG Shi-long MA Xiao-fang

(Advanced Analysis and Testing Center, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: Ginkgolides are the main and special ingredients of extracts of *Ginkgo biloba* leaves. And ginkgolides have many kinds of biological activities. There are little research on ginkgolides because of a smaller amount of ginkgolides in *Ginkgo biloba* leaves. In this paper, a comprehensive descriptor is made of the extraction, separation, purification and detection methods of ginkgolides. The high purity of ginkgolides could be obtained by choosing suitable solvents and extraction methods with appropriate separation ways, such as column chromatography and solvent extraction method. While higher purity of ginkgolides, even monomers of ginkgolides were obtained by crystallization process, high-speed counter-current chromatography, which is important to pharmaceuticals industry.

Key words: Ginkgolides, *Ginkgo biloba* leaves, Extraction, Separation, Detection

银杏内酯化合物是银杏叶特有的成分,目前在其他植物中尚未发现。银杏内酯属于萜类化合物,主要包括银杏内酯 A、B、C、J、M 和白果内酯,其中银杏内酯 A、B、C、J、M 属于二萜类化合物,白果内酯为倍半萜化合物^[1](见图 1)。银杏内酯也是银杏叶提取物中的一类主要成分,具有拮抗血小板活化因子的作用,可以用来保护神经系统、治疗老年痴

呆、中风;具有抗炎症作用,可以用来治疗器官移植、缺血再灌注等引起的炎症,以及其他各种炎症^[2-5];此外还具有抑制细胞凋亡、抗癌等作用^[6-7]。目前,含有银杏内酯的药物越来越受到人们的重视,银杏二萜内酯葡胺注射液、银杏达莫注射液、银杏内酯注射液,舒血宁注射液、银杏叶片及其注射液等药物已广泛用于治疗心脑血管疾病。但是,由于银杏萜内

收稿日期:2018-08-04

基金项目:南京林业大学青年科技创新基金(CX2017004)。

作者简介:杨世龙(1989-),男,实验师,研究生,主要从事天然产物的提取与生物活性研究,e-mail:yshl6072@163.com。

酯在银杏叶中含量低,提取过程复杂,产量低,纯度低,所以银杏内酯类的药物价格相对较高。为进一步提高银杏内酯产量和质量,降低成本,让更多的患者用得起,本文总结了一些银杏萜内酯的提取、分离和检测方法,以期银杏内酯的产业化提供参考。

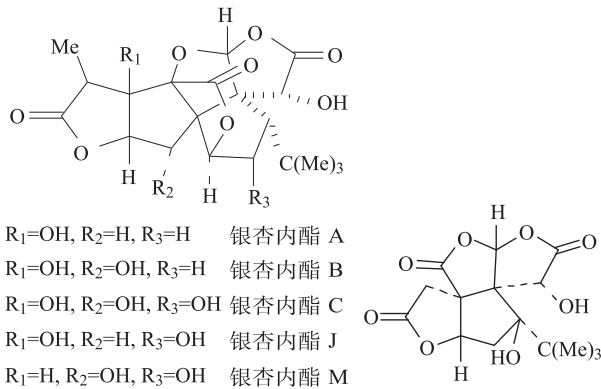


图1 银杏内酯 A、B、C、J、M 和白果内酯

1 银杏内酯的提取分离

银杏内酯虽含有羟基,但由于结构复杂,一般不溶于水,易溶于有机溶剂,故常用有机试剂作为提取试剂,常见的提取方法有:有机溶剂回流法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法。此外,还有超临界提取法、闪式提取法、生物合成法等。

1.1 有机溶剂回流法

有机溶剂回流法常用于天然产物的提取,根据银杏内酯的溶解性,常常选用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等有机试剂作为提取试剂,有时使用它们的混合溶剂,效果会更好些。冷平生^[8]等考察了甲醇、乙醇和丙酮水溶液对银杏内酯的提取效果,发现甲醇和丙酮的水溶液提取效果较好,而乙醇水溶液提取效果较差,并进一步优化了不同浓度的甲醇水溶液作为提取剂,发现甲醇浓度大时,提取物中杂质较多,甲醇浓度过小时,银杏内酯的提取率过低,最终优化得到 20% 甲醇水溶液的提取效果最好。有机溶剂回流法提取银杏内酯具有操作简便,成本低等优点,但是往往所得提取物中成分复杂,银杏内酯的含量相对较低,而其他方法相对较好。

1.2 超声波、微波辅助提取法

超声波具有机械效应,空化效应和热效应,能增大分子的运动,使有机试剂分子快速进入到银杏叶

中,将有效成分快速溶解出来。同样,微波通过其波动性、高频性、热特性和非热特性,使银杏叶中有效成分快速溶解出来。超声波和微波辅助提取法都具有提取效率高、有机溶剂用量少、温度低等优点,很适合天然产物的提取。戴余军等^[9]研究了超声波辅助提取银杏叶内酯的工艺,发现超声波的功率和超声时间对银杏内酯的提取率影响较大,当超声功率为 360 W,超声时间为 10 min 时,银杏内酯提取率可达 0.535%,功率过大或者时间过长容易造成银杏内酯分解,提取率反而会降低。朱兴一等^[10]对微波辅助提取银杏叶中内酯的工艺进行优化,采用单因素实验法和正交实验法对提取银杏内酯的工艺进行优化,得到的最佳提取工艺条件是:在 500 W 的功率下,用 70% 的乙醇水溶液,提取 8 min,液固比为 20:1,此条件下得到的银杏内酯提取率为 $1.620 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,提取效率和提取率明显比有机溶剂回流法好。吴昊等^[11]将超声波辅助提取法和微波辅助提取法相结合,研究了超声波-微波协同提取银杏内酯 B 的工艺参数,设置超声功率为 50 W,微波功率为 300 W,微波协同运行时间为 40 s,在此条件下,优化得到银杏内酯 B 的最佳提取工艺为:以 70% 的乙醇溶液在 50 °C 下提取 4 min,液固比为 20:1,银杏内酯 B 的得率高达 0.81%。相比单一的超声波辅助提取法或者微波提取法,超声波-微波协同提取法效率更好,提取效果更好。

1.3 超临界提取法

超临界提取法是利用处于超临界状态的溶剂具有气体和液体的双重性质的特点来分离和纯化混合物^[12]。超临界提取法常用的溶剂为 CO_2 ,因为 CO_2 具有无毒、无溶剂残留,提取效率高,而且 CO_2 的超临界状态在较低的情况就可以达到,能耗低,已广泛用于植物中有效成分的提取。潘焯等^[13]采用超临界 CO_2 提取法研究了银杏内酯提取率随着提取时间的动态变化,发现在 0 ~ 20 min 总银杏内酯含量较高,而银杏内酯 A 的含量在 60 min ~ 80 min 达到最大,银杏内酯 B 和银杏内酯 C 的含量在 40 min ~ 60 min 达到最大,因此可以根据需要,通过改变提取时间来获得不同比例的银杏内酯。近年来,亚临界提取法也逐渐用于天然产物的提取,李文东等^[14]采用亚临界水提法,从银杏叶中提取银杏内酯,采用单因素实验和正交实验优化得到亚临界水提法的最佳

工艺:在 180℃ 下提取 3 次,每次 30 min,固液比为 1:25,在此条件下,银杏内酯的提取率 0.4623%。

1.4 闪式提取法

闪式提取法利用高速的机械剪切力和搅拌力,在短时间内将植物的花、茎、叶等组织打碎,让组织内的有效成分迅速与有机溶剂接触,并达到平衡^[15]。通常情况,闪式提取不需加热,并且使用溶剂少,时间短,效率较高。王平等^[16]采用正交实验研究了闪式提取法提取银杏内酯的工艺条件,认为在银杏叶粒径为 50 目时,用 60% 的乙醇提取 5 min,固液比 1:20,在此条件下,银杏内酯的提取率为 1.712 mg·g⁻¹。

1.5 生物合成法

随着生物技术的发展,利用菌株生产天然产物的研究越来越多,近年来,学者从银杏的根、茎中分离得到的曲霉属、盘长孢属、孢霉属菌株,尖孢镰刀菌,色串孢属和组丝菌属等真菌均能生产银杏内酯及其类似物^[17-19]。陈小明等^[20]从银杏的根、茎中分离得到了 116 种内生真菌,并筛选得到了能生产银杏内酯的真菌,该真菌属于毛霉属。利用菌类生产银杏内酯具有产量高、成分单一等优点,应用前景较好。

尽管超声波、微波辅助提取法,超临界提取法和闪式提取法的提取率高,杂质少,后处理方便,但是其成本高,尤其是超临界提取法需要特殊的设备,产业化的成本高。生物合成法是一种新兴的技术,可以通过微生物发酵的方法得到单一的内酯,发展前景很好。虽然有机溶剂回流法是传统的提取方法,采用此法得到的产物虽然含有较多杂质,但此法所用仪器设备简单,易于工业化,在优化溶剂的基础可以得到不错的结果。但无论采用哪种方法得到的银杏内酯都需要进一步纯化,才能得到合格的内酯产品。

2 银杏萜类内酯的分离纯化

由于银杏萜内酯在银杏叶中含量低,提取液中内酯含量也不是很高,需要进一步分离纯化。常用的分离纯化方法有柱色谱法,萃取,结晶等方法。

2.1 柱色谱法

柱色谱法常常用来分离提纯化合物,常用来分

离的填料有硅胶、大孔树脂、氧化铝等,同样,这些填料也通常用于分离纯化银杏内酯类化合物。硅胶和大孔树脂柱常用来分离纯化银杏内酯和银杏黄酮,而氧化铝柱子对银杏黄酮吸附较大,常用来制备银杏内酯。王永刚等^[21]采用闪式硅胶柱层析法将银杏叶提取物中的黄酮和内酯分开,发现乙酸乙酯可以将银杏内酯从柱上洗脱下来,且损失较小,为银杏内酯的分离纯化提供了新方法。韩金玉等^[22]考察了 AB-8、DM-130、D4020、ABD-4 和 NKA-9 5 种大孔树脂对银杏内酯的动态吸附,发现 AB-8 型号的大孔树脂对银杏内酯的吸附和解吸附较好,是提纯银杏内酯最佳的填料。李新岗等^[23]将含银杏内酯为 6% 银杏叶提取物过氧化铝柱,用乙醇洗脱,洗脱液经浓缩、加水析出白内酯色晶体,经液相色谱检测,内酯含量高达 95%。

2.2 溶剂萃取法

溶剂萃取法是根据银杏内酯在两相溶剂中的分配系数不同,在其中的一相中分配系数大,溶解度大,而再另一相中分配系数小,溶解度小,当两相分离时,就达到分离银杏内酯的目的。通常,将银杏叶提取物混悬于水中,采用合适的有机溶剂萃取,浓缩含有银杏内酯的有机溶剂,得到含量较高的银杏内酯。王成章等^[24]采用乙酸乙酯、丁酮、环己酮、乙醚等不同的溶剂萃取银杏叶提取液中的银杏内酯,并通过调节 pH 值、增加盐浓度的方法提高溶液的相密度,发现,在此条件下,乙酸乙酯萃取效果最好,可以将银杏内酯的浓度富集到 35%~40%。

2.3 结晶法

重结晶是提纯化合物的常用手段。陈凡等^[25]将含 6.14% 内酯的银杏叶提取物用乙酸乙酯萃取,萃取物用乙醇溶解后加入正己烷,让银杏内酯析出,最后用热的乙醇溶解,在低温下重结晶,得到的银杏内酯纯度大于 95%。

2.4 其他方法

由于银杏内酯结构相似,采用上述方法很难得到银杏内酯单体。随着分子烙印技术的发展,选择性地纯化某一种银杏内酯成为现实。郭文生等^[26]采用分子烙印技术,制备了能识别银杏内酯 C 的烙印聚合物,大大提高银杏内酯 C 的纯度。

在分离纯化银杏内酯的过程中,往往一种方法分离、纯化后所得内酯含量不是很高,需要将几种分

离纯化方法联合使用。柱色谱法、溶剂萃取法和结晶法都是常用的方法,将其中的两种或者3种结合,会得到纯度更高的银杏内酯。郁青等^[27]将柱色谱法和萃取法相结合,对银杏叶提取物进行精制,得到含量高达70%的银杏内酯制品。楼凤昌等^[28]采用柱色谱法和重结晶得到纯度较高的总银杏内酯,然后采用制备液相得到了6个银杏内酯的单体,将银杏内酯分离。此外,高速逆流色谱(HSCCC)技术的发展使得从复杂天然产物中提纯单一组分成为可能,HSCCC是一种新型的液-液分配技术,固定相和流动相都是液体,避免了不可逆吸附,具有样品损失少、快速和制备量大等优点。苏静等^[29]结合萃取法和柱色谱法得到银杏内酯的粗品后,以4:5:3:5比例的己烷-醋酸乙酯-甲醇-水作为溶剂系统,采用HSCCC法得到白果内酯、银杏内酯A和银杏内酯B的单体,纯度均在98%以上;再以2:6:3:5比例的己烷-醋酸乙酯-甲醇-水作为溶剂系统可以得到银杏内酯C的单体,纯度最高可达98%。由此可以发现,联用技术可以有效提高总银杏内酯的纯度,并根据需要,采用高速逆流色谱、制备液相等技术可以制得银杏内酯的单体。

3 银杏内酯的检测方法

银杏内酯类化合物由于紫外吸收弱,无法像黄酮类化合物用紫外检测,常用来检测银杏内酯类化合物的方法有高效液相色谱法、气相色谱法、质谱法、红外光谱法等。

3.1 高效液相色谱法

高效液相色谱法(HPLC)是检测银杏内酯的常用方法,色谱柱有正相柱和反相柱,检测器常用示差折光检测器(RID)和蒸发光散射检测器(ELSD)。秦燕等^[30]采用HPLC-RID法优化了银杏内酯A、B、C和白果内酯的检测方法,使得银杏内酯的峰达到基线分离,并采用外标法绘制了标准曲线,线性关系较好,可以用来定量。张亚中等^[31]采用HPLC-ELSD法测定了银杏叶胶囊中内酯的含量,实验采用C18柱,正丙醇-四氢呋喃-水(1:15:84)为流动相;蒸发光散射检测器的漂移管温度115℃,也得到了满意的结果。

3.2 气相色谱法

银杏内酯也可以用气相色谱进行检测,一般用

N_2 将银杏内酯分离,采用示差折光检测器或氢火焰离子化检测器进行检测。刘红梅等^[32]研究了毛细管柱气相色谱-氢火焰离子化检测器对银杏内酯进行分离检测,并以角鲨烷为内标物,对银杏叶提取物中的银杏内酯进行定量检测。廖咏玲等^[33]采用大口径毛细管气相色谱-火焰离子化检测器对银杏叶提取物中的银杏内酯A、银杏内酯B、银杏内酯C和白果内酯进行了分离与测定,通过优化温度等条件,优化了检测方法,使其分离效果较好,检测时间更短,为分析和检测银杏内酯提供了参考。

3.3 质谱检测法

质谱检测根据分子量检测待测物质的含量,具有准确度高,灵敏度高等优点。由于银杏内酯分子量偏大,很难气化,一般采用液质联用进行检测,不能直接进行气质联用检测。Mauri^[34]采用液质联用对银杏叶提取物中银杏内酯A、B、C、J和白果内酯进行分离和检测,采用电喷雾离子源,正离子模式,喷雾压力为2700 Torr,温度为300℃,可以准确地测定各个银杏内酯的含量,检测限可达10 pg。陈学国等^[35]用全二维液相色谱串联质谱,采用大气压电离离子源,对银杏叶提取物中的内酯和黄酮成分进行分离鉴定,检测并鉴定了银杏内酯B、银杏内酯C和白果内酯。

3.4 红外光谱检测法

红外光谱检测法是利用银杏内酯类化合物的羰基的特征吸收峰,根据羰基吸收峰面积的变化来对样品中总内酯进行定性和定量分析。姚评佳等^[36]用红外法测定了银杏叶提取物中的总内酯含量,研究发现,内酯类化合物的特征吸收峰在 1840 cm^{-1} ~ 1726 cm^{-1} 范围内,以银杏内酯B为标准品,在 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ KBr}$ ~ $100\text{ }\mu\text{g}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ KBr}$ 范围内,银杏内酯B在 1840 cm^{-1} ~ 1726 cm^{-1} 范围内的峰面积和其含量线性关系较好,可以作为定量分析的依据,并以此测定了样品中银杏内酯的含量,结果与高效液相色谱法接近,但此法更方便快捷。

3.5 其他检测方法

张渝阳等^[37]采用分光光度计法测定了银杏萜内酯的含量,其主要原理是利用银杏内酯在弱碱性条件下和三价铁离子形成萜内酯-羟酮酸铁配合物,该配合物在514 nm处有一最大吸收峰,利用此峰强度的变化即可对银杏内酯进行定性和定量检

测。实验发现,该法在 $45 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \sim 450 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内服从比耳定律,线性关系良好,其定量分析结果与 HPLC 法一致,可用于样品中银杏内酯含量的测定。此外,核磁共振法也可以对银杏内酯类化合物进行定性和定量分析,Choi 等人^[38]利用核磁共振氢谱对银杏内酯进行定量检测,以间苯三酚为内标物,将样品用氘代丙酮和氘代苯的混合溶剂溶解(体积比 1:1),根据内酯 12-H 的峰面积来对内酯含量进行测定,该法不需要对样品前处理,更加方便。

虽然对银杏内酯定性、定量检测的方法较多,但是常用来检测银杏内酯的方法是 HPLC 法,常用 ELSD 作为检测器,此法检测更准确、稳定性、重复性更好^[39],已成为国内、国外药典采用的方法。

4 展望

由于银杏萜内酯的诸多生物活性,制药行业对银杏内酯需求量越来越大,银杏内酯的量产已迫在眉睫。虽然银杏内酯的提取分离的方法很多,但目前为止没有适合工业化生产的工艺,因此,在今后的研究中应从以下几方面进一步开发银杏内酯的量产工艺。

(1) 扩大银杏叶 GAP 基地建设规模。按照《中药材生产质量管理规范》(GAP) 相关标准种植、管理银杏资源,从源头保证银杏叶质量,从而保证银杏叶中内酯的含量和质量。

(2) 优化银杏内酯提取工艺。目前便于工业化提取银杏内酯的方法为有机溶剂回流法,但影响因素较多,需要进一步优化适合大规模工业化的工艺条件。其他提取方法提取效果虽好,但受仪器设备限制,导致产量低,因此,进一步研究开发适合量产的仪器设备也显得很重要。

(3) 优化银杏内酯纯化工艺。柱色谱法是纯化银杏内酯最有效的方法,是目前大量生产银杏内酯的主要方法,但是如何提高生产效率有待进一步研究,可以从填料开发、上样浓度、流速等方面着手。此外,制备银杏内酯单体也是一项极为有意义的工作。

(4) 优化检测手段。目前,银杏内酯公认的检测方法是 HPLC-ELSD 法,该法对仪器的性能要求较

高,需要优化的参数较多,因此,在优化现有检测方法的同时,可以开发其他检测方法,例如,质谱法,核磁共振法都是检测内酯的有效手段。

总之,银杏内酯的量产还有很多工作要做,作为银杏资源大国,银杏深加工还相对落后,许多关键技术还有待突破,应大力支持银杏产业的发展。

参考文献:

- [1] 李文东,高乾善,杨鹏,等. 银杏叶中银杏内酯提取工艺研究[J]. 山东科学,2016,29(5):29~35.
- [2] Grypioti A D, Kostopanagioutou G, Demopoulos C A, et al. Platelet activating factor (PAF) antagonism with ginkgolide B protects the liver against acute injury. importance of controlling the receptor of PAF[J]. Digestive Diseases and Sciences. 2008,53(4):1054~1062.
- [3] Ma S W, Liu X Y, Xun Q R, et al. Neuroprotective effect of ginkgolide K against H_2O_2 -induced PC12 cell cytotoxicity by ameliorating mitochondrial dysfunction and oxidative stress[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2014,37(2):217~225.
- [4] Hao Y L, Sun Y W, Xu Y, et al. Improvement of contractile function in isolated cardiomyocytes from ischemia-reperfusion rats by ginkgolide B pretreatment[J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 2009,54(1):3~9.
- [5] Liu X Y, Zhao G X, Yan Y, et al. Ginkgolide B reduces atherogenesis and vascular inflammation in ApoE^{-/-} Mice[J]. Plos One. 2012,7(5):1~10.
- [6] Chan W H. The signaling cascades of ginkgolide B-induced apoptosis in MCF-7 breast cancer cells[J]. International Journal of Molecular Sciences. 2007,8(11):1177~1195.
- [7] Farooq A, Whitehead D, Azzawi M. Mitochondria protection with ginkgolide B-loaded polymeric nanocapsules prevents diethylnitrosamine-induced hepatocarcinoma in rats[J]. Naomedicine,2014,9(3):413~425.
- [8] 冷平生,王天华,吴京科,等. 银杏萜类内酯的提取和气相色谱与质谱分析[J]. 北京林业大学学报,2000,(5):19~22.
- [9] 戴余军,仇小艳,田春元,等. 超声波辅助酶法提取银杏叶总内酯的工艺研究[J]. 食品科技,2014,39(12):244~248.
- [10] 朱兴一,谢捷,忙怡丽,等. 微波辅助提取银杏叶萜类内酯的工艺研究[J]. 高校化学工程学报,2009,23(6):1080~1083.
- [11] 吴昊,宗志敏,李秀秀. 超声-微波协同萃取银杏叶黄酮与内酯 B 的工艺研究[J]. 中国酿造,2016,35(10):153~156.
- [12] 张玉祥,邱蔚芬. CO_2 超临界萃取银杏叶有效成分的工艺研究[J]. 2006,13(4):255~256.
- [13] 潘妍,谷西荣,庄晓伟,等. 银杏叶超临界 CO_2 萃取银杏内酯动态变化的研究[J]. 生物质化学工程,2010,44(3):28~31.
- [14] 李文东,郑振佳,高乾善,等. 银杏内酯的亚临界水提取工艺研究[J]. 化学与生物工程,2017,34(5):33~36.

- [15] 邓引梅,宋发军,崔永明,等.甘草叶总黄酮提取工艺[J].中南民族大学学报(自然科学版),2008(1):41~43.
- [16] 王平,陈丹龙,朱兴一,等.闪式提取银杏叶中萜类内酯的工艺研究[J].时珍国医国药,2009,20(11):2825~2826.
- [17] 严铸云,罗静,郭晓恒,等.产银杏内酯内生真菌的筛选及培养条件研究[J].天然产物研究与开发,2007(4):554~558.
- [18] 包飞,樊明涛,贺江.产银杏内酯B内生真菌的分离与筛选[J].西北农业学报,2008(3):328~331.
- [19] Cui Y N, Yi D W, Bai X F, et al. Ginkgolide B produced endophytic fungus (*Fusarium oxysporum*) isolated from *Ginkgo biloba* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(5):913~920.
- [20] 陈小明,何福林,李志忠,等.产银杏内酯内生真菌的分离与鉴定[J].食品与机械,2017,33(08):27~30.
- [21] 王永刚,李守信,向兰.闪式硅胶柱层析法分离银杏黄酮和萜类内酯的工艺研究[J].齐鲁药事,2010,29(7):425~427.
- [22] 韩金玉,李海静,李岩,等.大孔吸附树脂对银杏内酯和白果内酯吸附性能的研究[J].离子交换与吸附,2000,16(5):426~431.
- [23] 李新岗,黄蕴慧,顾银娜,等.银杏内酯的柱色谱制备[J].中国医药工业杂志,2001(1):4+8.
- [24] 王成章,郁青,谭卫红,等.溶剂萃取银杏萜内酯的因子研究[J].天然产物研究与开发,1999(2):53~57.
- [25] 陈凡,李奕雅.结晶法纯化银杏内酯的研究[J].福建轻纺,2008(12):43~46.
- [26] 郭文生,周波,徐赫男,等.银杏内酯C分子烙印聚合物的制备[J].天然产物研究与开发,2008(2):317~319+331.
- [27] 郁青,沈兆邦,袁跃平,等.高含量银杏萜内酯富集方法研究[J].林产化学与工业,2000(2):1~4.
- [28] 楼凤昌,凌娅,唐于平,等.银杏萜内酯的分离、纯化和结构鉴定[J].中国天然药物,2004(01):12~16.
- [29] 苏静,谈锋,李连强,等.高速逆流色谱法分离纯化银杏叶中白果内酯和银杏内酯A、B、C[J].中草药,2008,39(11):1644~1648.
- [30] 秦燕,何新英,庄慧娣,等.HPLC测定银杏提取物中主要黄酮和萜内酯含量的优化方法[J].上海第二医科大学学报,2003(3):234~236.
- [31] 张亚中,周亚球,王娟,等.HPLC-ELSD法测定银杏叶软胶囊中萜类内酯的含量[J].中成药,2005(1):26~28.
- [32] 刘红梅,周庆霞,杨文玲.毛细管柱气相色谱法测定银杏叶提取物中银杏萜内酯含量[J].理化检验(化学分册),2008(10):982~985.
- [33] 廖咏玲,许锋,朱俊,等.大口径毛细管气相色谱分离和测定银杏叶萜内酯的方法建立[J].西北农业学报,2008(1):146~149.
- [34] Mauri P, Migliazza B, Pietta P. Liquid chromatography/electrospray mass spectrometry of bioactive terpenoids in *ginkgo biloba* L. [J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 1999, 34:1361~1367.
- [35] 陈学国,孔亮,盛亮洪,等.全二维液相色谱串联质谱用于银杏叶提取物成分分析的研究[J].色谱,2005(1):46~51.
- [36] 姚评佳,梁锦添,段金友,等.傅里叶红外标准加入法测定银杏叶提取物(EGb)中的总内酯[J].广西农业生物科学,1999(1):51~54.
- [37] 张渝阳,王鑫,赵丽娟,等.分光光度法测定银杏萜内酯的含量[J].辽宁化工,2006(10):618~620.
- [38] Choi Y H, Choi H K, Hazekamp A, et al. Quantitative analysis of bilobalide and ginkgolides from *ginkgo biloba* leaves and ginkgo products using $^1\text{H-NMR}$ [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2003, 501(2):158~161.
- [39] 耿婷,申文雯,王佳佳,等.银杏叶中内酯类成分的研究进展[J].中国中药杂志,2018,43(7):1384~1391.