

## イチョウ葉エキスの薬理活性

Pharmacological Activities of *Ginkgo Biloba* Extract

佐々木 啓子・松岡 耕二

Keiko SASAKI and Koozi MATUOKA

## 抄録

イチョウ葉エキス (EGb761)は、1950年代から薬理研究が始められ、現在では、アルツハイマー病や認知症の治療に利用されている。フラボノイド24%、テルペノイド6%を含有する標準化されたエキスは、めまいや耳鳴り、記憶力減退、不安などの精神神経症状の改善に効果が報告されている。EGb761のこれらの作用には、活性成分と考えられているフラボノイドやテルペノイドの抗酸化作用や神経保護作用が、関係すると考えられている。ここでは、薬理的根拠とされるフラボノイドやテルペノイドの中枢神経系における生理活性と、近年報告されているEGb761の臨床効果に対する評価について述べる。

## はじめに

イチョウ (*Ginkgo biloba* L.)は1科1属1種の落葉高木で、アジア、欧州、北米で栽培されている雌雄異株の植物である。イチョウ科植物 (*Ginkgoaceae*)は、中生代ジュラ紀に最も栄え、その後大半は絶滅した。現存するイチョウは中国南部に残った1種が人為的に移植されたもので、1億5千万年前より現在まで生き残っていることから、「生きている化石」といわれる。ギンクゴという属名は日本語の銀杏の音読み(ぎんきょう)に由来する。

イチョウの葉や種子(すなわちギンナン)の薬としての利用は、中国における薬局方の古典である「神農本草経」や「本草綱目」に遡るが、現在のように記憶や学習の改善効果が注目されるのは、1960年代ドイツの製薬会社において研究・開発されたイチョウ葉エキスが脳や末梢の血流改善に使用されたこと

に始まる。その後、このイチョウ葉エキスはEGb761というコードネームが付けられ、有効成分としてフラボノイド24%とテルペノイド6%を含み、アレルギーの原因となるギンコール酸含量を5ppm以下になるよう規格化されている。日本でも、(財)日本健康・栄養食品協会が、イチョウ葉エキスについて欧米と同等の規格を定めている。イチョウ葉は葉が緑色の時期に収穫される。エキスの製造には欧米ではアセトン抽出が行われているが、日本ではイチョウ葉エキスが健康食品として使用されているため、食品衛生法の規制によりエタノール抽出で製造される。

現在までにEGb761を用いた薬理学試験は多数行われ、有効性が報告されている<sup>1)</sup>。臨床試験においても、記憶力減退、めまい、耳鳴り、頭痛、不安感などに対する有効性を示す論文が多数報告されている。本稿では、近年報告されたイチョウの生理活性について述べる。

連絡先：佐々木啓子 k-sasak@cis.ac.jp

千葉科学大学薬学部薬学科

Department of pharmacy, Faculty of pharmacy,  
Chiba Institute of Science

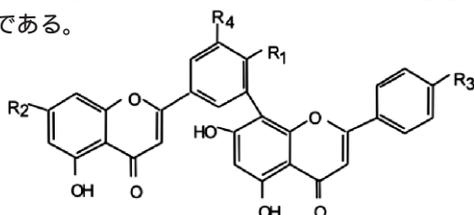
(2011年10月7日受付、2011年12月21日受理)

## イチョウ葉の構成成分

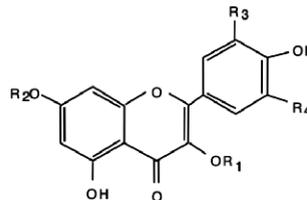
イチョウ葉に含有する成分のなかで、代表的あるいは特徴的成分について以下に述べる(図1-3)。成分の詳細について van Beekが記載している<sup>2)</sup>。

1. フラボノイド (図1)

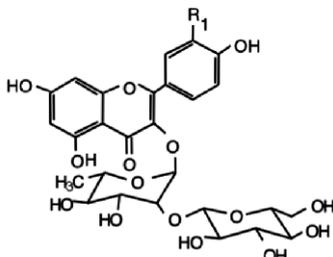
イチョウ葉に含まれる主要フラボノイド成分はピフラボン、フラボノール、フラボンである。イチョウ葉ピフラボンは、アメントフラボン(1)とその誘導体であるピロベチン(2)、ギンクゲチン(3)、イソギンクゲチン(4)、シアドピチシン(5)、5'-メトキシピロベチン(6)が知られている。イチョウ葉エキスのピフラボン含有量は、僅かである。イチョウ葉には20種類以上のフラボノールとフラボノール配糖体が存在することが知られている。ケンフェロール(7)、ケルセチン(8)、イソラムネチン(9)、ミリセチン(10)は主要なアグリコンである。配糖体の糖部には、グルコース(11-14)、ラムノース(15)、ルチノース(16-20)が多い。他に、kaempferol/querctin-3-O-(2''-O-glucosyl)rhamnoside(21-22)や*p*-クマリン酸エステルが結合した kaempferol/querctin-3-O-(6'''-O-*p*-coumaroyl-2''-O-glucosyl)rhamnoside(23-24)などが報告されている。フラボンとフラボン配糖体も含有する。また、イチョウ葉には2種類のプロアントシアニジンが報告されている。イチョウ葉エキスのプロアントシアニジンの含有量は約7%である。



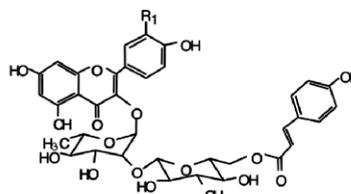
No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
(1) Amentoflavarione	OH	OH	OH	H
(2) Bilobetin	OMe	OH	OH	H
(3) Ginkgetin	OMe	OMe	OH	H
(4) Isoginkgetin	OMe	OH	OMe	H
(5) Sciadopitysin	OMe	OMe	OMe	H
(6) 5'-Methoxybilobetin	OMe	OH	OH	OMe



No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
(7) Kaempferol	H	H	H	H
(8) Quercetin	H	H	OH	H
(9) Isorhamnetin	H	H	OMe	H
(10) Myricetin	H	H	OH	OH
(11) Kaempferol-3-O-glucoside	glucose	H	H	H
(12) Kaempferol-7-O-glucoside	H	glucose	H	H
(13) Kaempferol-3-O-rutinoside	glucose	H	OH	H
(14) Quercetin-3-O-glucoside	glucose	H	OMe	H
(15) Quercetin-3-O-rhamnoside	rhamnose	H	OH	H
(16) Quercetin-3-O-rutinoside (Rutin)	rutinoside	H	OH	H
(17) Isorhamnetin-3-O-glucoside	rutinoside	H	H	H
(18) Isorhamnetin-3-O-rutinoside	rutinoside	H	OMe	H
(19) Myricetin-3-O-rutinoside	rutinoside	H	OH	OH
(20) 3'-O-methylmyricetin-3-O-rutinoside	rutinoside	H	OMe	OH



No.	R <sub>1</sub>
(21) Kaempferol-3-O-(2''-O-glucosyl)rhamnoside	H
(22) Quercetin-3-O-(2''-O-glucosyl)rhamnoside	OH

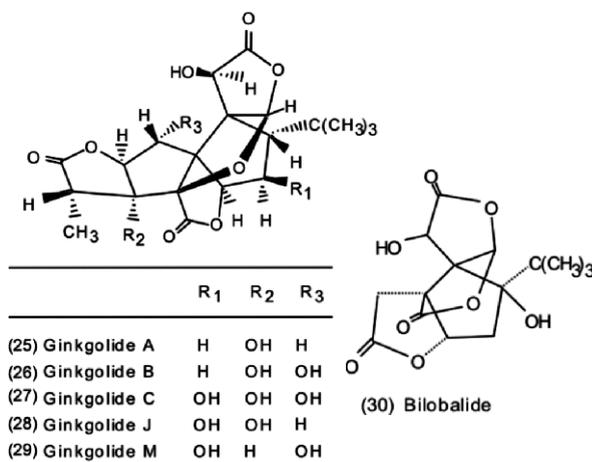


No.	R <sub>1</sub>
(23) Kaempferol-3-O-(6'''-O- <i>p</i> -coumaroyl-2''-O-glucosyl)rhamnoside	H
(24) Quercetin-3-O-(6'''-O- <i>p</i> -coumaroyl-2''-O-glucosyl)rhamnoside	OH

図1 フラボノイド

2. テルペノイド (図2)

ギンコライドは、古川によって初めて分離され、その後、丸山ら、中西らによって構造が決定された。6員の5員環からなる‘カゴ形構造’を形成するジテルペンである。また、特徴のある*tert*-ブチル基を有する。これまで5種類のギンコライドA(25)、B(26)、C(27)、J(28)、M(29)が知られているが、ギンコライドMはイチョウの根皮にのみ存在する。ピロバライド(30)は、4員の5員環からなるセスキテルペンで、ギンコライドと同じく*tert*-ブチル基を有する。これらのテルペノイド類はイチョウに特有な成分で、これまで他の植物では見つかっていない。イチョウ葉エキス中の含量は、ピロバライド2.9%、ギンコライド類3.1%である。イチョウ葉テルペノイドの分析には、屈折率検出器や蒸気光散乱検出器(ELSD)による高速液体クロマトグラフィー法が用いられている<sup>3)</sup>。近年、帯電エアロゾル検出器を用いた分析方法が報告された<sup>4)</sup>。

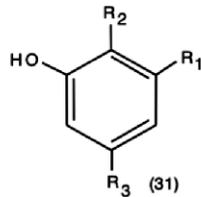


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
(25) Ginkgolide A	H	OH	H
(26) Ginkgolide B	H	OH	OH
(27) Ginkgolide C	OH	OH	OH
(28) Ginkgolide J	OH	OH	H
(29) Ginkgolide M	OH	H	OH

図2 テルペノイド

3. アルキルフェノール類 (図3)

イチヨウに含まれる6アルキルサリチル酸 (31) アルキル基の炭素数が13-19個)は、ギンコール酸とも呼ばれる。特に、炭素数13、15、17個のアルキル基を持つギンコール酸が、葉に存在することが知られている。また、イチヨウの外果皮には、ギンコールやピロポールなどのギンコール酸の脱炭酸化合物が存在する。このようなアルキルフェノール類は、アレルギー性皮膚炎を起こすことが知られており、標準化されたイチヨウ葉エキスでは、ギンコール酸含量を5ppm以下と規定している。最近、ギンコール酸のヒトのがん細胞に対する増殖抑制効果が、報告されている<sup>5)</sup>。



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
	(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> CH <sub>3</sub>	COOH	H
Ginkgoic acid	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	COOH	H
	(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	COOH	H
	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	H	OH
Bilobol	(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	H	OH
	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	H	H
Ginkgol	(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	H	H
	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	H	H

図3 アルキルフェノール酸

イチヨウ葉エキスの生理活性と活性成分

1. 抗酸化作用

活性酸素はミトコンドリアを始めとして、生体内代謝の様々な過程で発生し、DNAやタンパク質、脂質に傷害を与える。活性酸素による神経細胞死は、虚血や外傷による脳傷害やアルツハイマー病との関係が示唆されている。

標準化されたイチヨウ葉エキスEGb761はヒドロキシラジカル、ペルオキシラジカル、スーパーオキシドに対してフリーラジカル消去作用を示した。さらに、EGb761は、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、カタラーゼ、グルタチオンパーオキシダーゼ、ヘムオキシゲナーゼ-1などのフリーラジカル消去酵素を活性化した。このことから、EGb761は、フリーラジカルに直接あるいは間接的に作用し、生体を活性酸素から防御することが示された<sup>6)</sup>。また、EGb761は、過酸化水素によって誘導されるラット脊髄神経死に対して、細胞死を低下させた。これは、過酸化水素による活性酸素の発生を、EGb761が抑制したことに関係する<sup>7)</sup>。また、ナフタレンは、組織

に酸化的損傷を誘導するが、EGb761は、マウスの肝臓、肺、腎臓において、ナフタレンで誘導された炎症サイトカイン(TNF- $\alpha$ 、インターロイキン1-)やペルオキシダーゼ活性の上昇を抑制した。細胞内抗酸化物質であるグルタチオン含量の低下も抑えた<sup>8)</sup>。これらの結果はEGb761の抗酸化作用を示す。

活性成分に関して、次のような報告がある。サルコーマ108を移植した発がんモデルマウスでは、SODやカタラーゼ活性、グルタチオン含量の低下が認められたが、高濃度のフラボノイドアグリコンを含有するイチヨウ葉エキスを与えられたマウスでは、与えなかったマウスと比較して、抗酸化酵素活性や抗酸化物質含量が、有意に上昇することが示され、フラボノイドによる抗酸化作用の関与が示唆された<sup>9)</sup>。

一方、テルペノイドのピロバライド(以下BB)は、一酸化窒素(NO)やキサンチン/キサンチンオキシダーゼ系で誘導された活性酸素による傷害からPC12細胞を保護して、細胞の生存を高めた。BBIは、SODやカタラーゼのような抗酸化酵素を誘導する<sup>10)</sup>。他にも、アポトーシス誘導に関与する遺伝子産物(c-Myc, p53, Bax)の増加やアポトーシスで活性化されるタンパク質分解酵素(カスパーゼ-3)の抑制が示された。このことは、BBが活性酸素によるアポトーシスを抑制することを示している<sup>11)</sup>。

2. 神経保護作用

一過性の脳虚血後の再灌流によって、数日後に現れる海馬や小脳神経細胞の死は、遅発性神経細胞死と呼ばれる。この現象は、脳虚血やアルツハイマー病などの神経疾患に見られ、グルタミン酸受容体の過剰な興奮が、神経細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇させ、これをトリガーとしてCa<sup>2+</sup>依存性酵素の活性化を経て、カスパーゼなどのプロテアーゼが活性化され、細胞骨格や細胞膜の破壊が起こり、神経細胞死に至ると考えられている。

トリエチル錫によって誘発される脳浮腫や局所脳虚血による脳の傷害は、BBの前処置によって、減少した。低酸素処理前にBBを処理すると、低酸素による海馬神経からのコリンの流出が抑制された。この作用はギンコライドでは認められなかった。またBBはラットの海馬標本で、グルタミン酸によるホスホリパーゼA<sub>2</sub>の活性化やリン脂質の分解を抑制した。これらの結果は、BBが低酸素によるリン脂質の分解から、細胞膜を保護することを示す<sup>10)</sup>。ギンコライドA(GA)とギンコライドB(GB)の両方を含むギンコライドエキス(GKAB)は、ラットの局所脳虚血モデルで虚血による傷害を減少させた。虚血後のp-NIK(NF- $\kappa$ B inducing kinase)レベルの上昇やp-IKK(I $\kappa$ B kinase)の上昇をGKABは抑えた。このことから、GKABの神経保護作用には、NIK/IKK/I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B

(Nuclear factor- $\kappa$ B) シグナル伝達系の関与が示唆された<sup>12)</sup>。

アポトーシスは、生理的細胞死であるが、老化や神経栄養因子除去による神経細胞の死およびアルツハイマー病に見られる神経細胞死にも、アポトーシスが関与すると考えられている。BB、GB、ギンコライドJは、ニワトリ胚の神経で血清除去やスタウロsporinによるアポトーシスの傷害を抑制した。また、ラットの海馬神経でもBBやGBが、スタウロsporin誘発のアポトーシスを抑制することが報告されている<sup>13)</sup>。

一方、ミトコンドリアは、細胞内の発電所 (power house of the cell) と呼ばれ、共役した酸化リン酸化を介してATPを産生する場である。虚血はミトコンドリアを脱共役状態 (電子伝達系のエネルギーを利用して、ADPからATPが作られる酸化リン酸化が阻害された状態) にする。EGb761やBBは、虚血によるATPの減少を抑制した<sup>14)</sup>。虚血前の7日間、経口投与されたBBは、5分間の全虚血と再灌流によって海馬CA1に起こる神経細胞死や、ミトコンドリアDNAにコードされたシトクロムcオキシダーゼ (COX) サブユニット IIの虚血によるmRNA発現の減少を抑制した。ミトコンドリア遺伝子の発現は、虚血後再灌流の初期に発生するミトコンドリア機能不全の敏感なマーカーと考えられている。これらの結果より、BBは、ミトコンドリアに直接作用して脳のエネルギー代謝を保持し、遅発性神経細胞死を抑制することが示された<sup>15)</sup>。

また、ミトコンドリア膜電位の変化もミトコンドリア機能のマーカーとして知られており、膜電位の低下は、様々なタイプの細胞の細胞死に関連している。EGb761は、過酸化水素によって誘発されるPC12細胞のミトコンドリア膜電位の変化を安定させた<sup>16)</sup>。さらに、NO供与体 (ニトロプルシドナトリウム) による酸化ストレスに対して、EGb761は、PC12細胞やマウスの脳細胞において、ミトコンドリア膜電位の低下やATPレベルの減少を改善した。このミトコンドリア保護作用は、若齢マウスよりも老齢マウスで顕著であった<sup>17-18)</sup>。

これまでに、EGb761の虚血や低酸素に対する神経保護作用が多数報告されている。近年の研究成果より、この作用メカニズムには、一部、テルペノイドの抗アポトーシス作用やミトコンドリア保護作用が関与すると考えられる。

### 3. アミロイド

アルツハイマー病は、進行性の記憶認知障害の一つである。病理学的特徴として、アミロイドから成る老人斑と神経細胞内のタウタンパク質による神経原線維変化が挙げられている。アミロイドは、

アミロイド前駆体タンパク質 (APP) から、セクレターゼと呼ばれる一連のプロテアーゼによって生理的な条件下で、切断されて生成する。神経細胞の障害は、アミロイドの蓄積や凝集によって起こる。また、アミロイドをトリガーとして、神経細胞内にタウタンパク質の蓄積が誘導され、その結果、神経細胞死や神経変性が起こると考えられている。現在、アルツハイマー病の原因遺伝子として、APPとプレセニリン1および2が知られており、これらの遺伝子変異により、アミロイドの産生が上昇する。

APP遺伝子変異とプレセニリン遺伝子変異を二重に発現させた神経芽腫細胞株 (N2細胞) において、EGb761は、アミロイド神経原線維の形成を抑制した。さらに、ミトコンドリア経路のアポトーシスとカスパーゼ3活性を低下させた。このことからEGb761は、アミロイドの毒性を低下させ、ミトコンドリア経路のアポトーシスを抑制することが示唆された<sup>19)</sup>。さらに、APP変異体を発現させたTg2576マウスに、EGb761 (300 mg/kg) を16ヶ月与えた実験では、大脳皮質でAPPのタンパク質レベルとmRNA発現レベルが減少した。この作用は、海馬では認められず、組織特異性が認められた<sup>20)</sup>。一方、Tg2576マウスやN2細胞を用いた実験系では、EGb761やフラボノイド画分、テルペノイドは、セクレターゼ酵素活性やセクレターゼmRNA発現に作用しなかった<sup>21)</sup>。これらからAPPがEGb761の標的分子の一つとして挙げられた。

EGb761とフラボノイド画分は、アミロイド神経原線維の形成を抑制した。さらにEGb761はヒストン脱アセチル化酵素SIRT1を活性化した。一方、EGb761は、アミロイドによって誘導されるNF- $\kappa$ Bの活性化やERK1/2, JNK経路の活性化を抑制した。ギンコライドBは、N2細胞において、アミロイドの神経原線維形成を抑制しなかったが、アミロイドの毒性から細胞を保護した<sup>22)</sup>。これらのことから、EGb761は、アミロイドの毒性を抑制して神経細胞の保護に働き、活性成分のフラボノイドやテルペノイドは、それぞれ異なるメカニズムで作用することが示唆された。

### 4. 抗炎症作用

高濃度のビフラボンとテルペンを含有するイチョウ葉エキスは、マウス由来のRAW264.7マクロファージにおいて、リポポリサッカライド (LPS) 誘導によるNF- $\kappa$ Bの活性化を抑制して、NF- $\kappa$ Bの標的遺伝子 (inducible nitric oxide synthase : NOSとcyclooxygenase-2 : COX-2) のmRNA発現およびタンパク質発現を抑制した。転写因子NF- $\kappa$ Bは、抑制因子I- $\kappa$ Bと結合して細胞質に局在するが、I- $\kappa$ Bがユビキチ

ン系による分解を受けると、NF- $\kappa$ B は核に移行して、標的遺伝子の転写を誘導する。EGb761は、I $\kappa$ Bの分解を抑制してNF- $\kappa$ B とDNAの結合を抑制した<sup>23)</sup>。同様な結果は、マウスの潰瘍性大腸炎モデルでも示された。EGb761の処置は、予防と治療の両方で、炎症マーカー（NOS, COX-2, TNF- $\alpha$ ）やアポトーシス因子（p53, リン酸化p-53）をダウンレギュレーションした<sup>24)</sup>。EGb761とケルセチンは、LPS刺激によって誘導されるRAW264.7からのTNF- $\alpha$ 分泌を抑制した。ケルセチンは、JNK/SAPKシグナル伝達系を抑制することによってTNF- $\alpha$  遺伝子の転写を抑制したが、EGb761は、TNF- $\alpha$  遺伝子の転写に影響しなかった<sup>25)</sup>。一方、ホモシステインは、ヒト単球細胞THP-1において、酸化ストレスとI $\kappa$ B mRNAの抑制によるNF- $\kappa$ B 活性化を引き起こし、NOS発現によるNO生成を高めたが、EGb761やテルペノイド（GA, GB, BB）は、ホモシステイン作用を阻害してNF- $\kappa$ B 活性化を弱めた<sup>26)</sup>。EGb761は、NF- $\kappa$ B シグナル経路の活性化抑制を介して、炎症の抑制に作用することが示された。活性成分としてイチョウフラボノイドのケルセチンとイチョウテルペノイドの関与が示唆された。

#### 認知症に対する臨床効果と評価

EGb761を使った臨床試験が、多数報告されている。近年、システマティック・レビューが報告されているが、以下のようにEGb761の効果に関する統一的な結論は、まだ得られていない。

EGb761のアルツハイマー病や認知症の発症率への効果が、2008年 JAMAに報告された<sup>27)</sup>。多施設二重盲検無作為化対照臨床試験が、認識機能が正常な高齢者と軽度認知機能障害を有する高齢者に行われた。EGb761（120mg 1日2回）は、認知症やアルツハイマー病の発症率を減少させなかった。一方、認知症の精神神経症状に対するEGb761の効果を確かめるため、Neuropsychiatric Inventory (NPI)スコア5以上の軽度から中程度の認知症患者に対して、多施設二重盲検無作為化対照臨床試験が行われた。NPIは、認知症患者の介護者の観察によって、妄想、幻覚、興奮、不安、うつなどの精神神経症状を項目ごとに得点化する評価尺度で、アルツハイマー病薬の臨床試験における評価指標として用いられている。EGb761（240mg 1日1回、24週間）はNPIのポイントを減少させたのに対して、プラセボでは変化がなかった。特にEGb761は、無関心、睡眠/夜間行動、うつ、異常行動に対する効果がプラセボより優れていた<sup>28)</sup>。

コクラン・レビューは、あるテーマに関して過去に行われた臨床試験データや論文をデータベースか

ら検索して、試験方法や結果について精査し、評価するシステマティック・レビューであり、評価方法が確立されていることから、信頼度が高い。2009年、認知障害および認知症に対するイチョウの効果と安全性についてコクラン・レビューが報告された<sup>29)</sup>。報告によると、評価対象として条件を満たした4試験のうち3試験では、EGb761とプラセボの間に差が認められず、1試験が、EGb761に非常に大きな治療効果を報告している。EGb761は、副作用がなく使用上は安全である。このことから、認知症や認知障害に対して、EGb761が有効であるという確信できる証拠はないと結論している。この他にも、近年、イチョウ葉エキスのアルツハイマー病や認知症に対するシステマティック・レビューが出された。アルツハイマー病患者を対象として行われたEGb761の無作為化対照試験を検索し、6研究を評価の対象として用いた。EGb761の高用量（240 mg 1日1回）は、効果に異質性が見られたが、すべての研究でEGb761の処置に好意的であった。エキスの毒性を示す証拠は、示されなかった。このことから、EGb761は、認知症状やそれに伴う精神病理学的症状に対して、有益な徴候を示したと報告している<sup>30)</sup>。

現在、EGb761が認知症の治療に効果を示す明確なデータは示されていない。今後、EGb761の長期的な試験が必要であろう。

#### おわりに

EGb761の活性成分は、フラボノイド（主にケルセチン）やテルペノイド（主にピロパライドやギンコライドB）であることが明らかになっている。生理活性として、(1)炎症シグナルの細胞内伝達に関与するNF- $\kappa$ B経路の抑制(2)ミトコンドリア機能の保持と活性酸素発生の抑制(3)アミロイドの生成や凝集の抑制があり、酸化ストレスやアポトーシスから細胞を保護する。これらは、EGb761の神経保護作用の根拠となっており、アルツハイマー病や認知症の神経精神症状の改善効果が期待されている。

## 引用文献

- 1) Sasaki K, Wada K, and Haga M. Studies in Natural Products Chemistry volume 28 Bioactive natural Products (Part I) ed. by Atta-ur-Rahman. Elsevier 2003, pp165-198.
- 2) van Beek, T. A., Ed. Ginkgo bilba. Harwood academic publisher: The Netherlands, 2000.
- 3) van Beek T. A., Chemical analysis of Ginkgo bilba leaves and extracts. J Chromatogr A. 2002;967: 21-55.
- 4) Kakigi Y, Mochizuki N, Icho T, Hakamatsuka T, Goda Y. Analysis of terpene lactones in a Ginkgo leaf extract by high-performance liquid chromatography using charged aerosol detection. Biosci Biotechnol Biochem. 2010;74(3):590-4.
- 5) Zhou C, Li X, Du W, Feng Y, Kong X, Li Y, Xiao L, Zhang P. Antitumor effects of ginkgolide A in human cancer cell occur via cell cycle arrest and decrease the Bcl-2/Bax ratio to induce apoptosis. Chemotherapy. 2010;56(5):393-402.
- 6) Mahadevan S, Park Y. Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo bilba L.: chemistry, efficacy, safety, and uses. J Food Sci. 2008;73(1):R14-9. Review.
- 7) Jiang X, Nie B, Fu S, Hu J, Yin L, Lin L, Wang X, Lu P, Xu XM. EGb761 protects hydrogen peroxide-induced death of spinal cord neurons through inhibition of intracellular ROS production and modulation of apoptotic regulating genes. J Mol Neurosci. 2009;38(2):103-13.
- 8) Tozan A, Sehirli O, Omurtag GZ, Cetinel S, Gedik N, Sener G. Ginkgo bilba extract reduces naphthalene-induced oxidative damage in mice. Phytother Res. 2007;21(1):72-7.
- 9) Feng X, Zhang L, Zhu H. Comparative anticancer and antioxidant activities of different ingredients of Ginkgo bilba extract (EGb761). Planta Med. 2009;75(8):792-6.
- 10) Defeudis FV. Bilbalide and neuroprotection. Pharmacol Res. 2002;46(6):565-8.
- 11) Zhou LJ, Zhu XZ. Reactive oxygen species-induced apoptosis in PC12 cells and protective effect of bilbalide. J Pharmacol Exp Ther. 2000;293(3):982-8.
- 12) Wang X, Qin ZH, Shi H, Savitz SI, Qin AP, Jiang Y, Zhang HL. Protective effect of Ginkgolides (A+B) is associated with inhibition of NIK/KK1/kappaB/NF-kappaB signaling pathway in a rat model of permanent focal cerebral ischemia. Brain Res. 2008;1234:8-15.
- 13) Ahlemeyer B, Kriegstein J. Pharmacological studies supporting the therapeutic use of Ginkgo bilba extract for Alzheimer's disease. Pharmacopsychiatry. 2003;36 Suppl 1:S8-14.
- 14) Janssens D, Remacle J, Drieu K, Michiels C. Protection of mitochondrial respiration activity by bilbalide. Biochem Pharmacol. 1999;58(1):109-19.
- 15) Chandrasekaran K, Mehraian Z, Spinnewyn B, Chinopoulos C, Drieu K, Fiskum G. Bilbalide, a component of the Ginkgo bilba extract (EGb761), protects against neuronal death in global brain ischemia and in glutamate-induced excitotoxicity. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2002;48(6):663-9.
- 16) Eckert A, Keil U, Kressmann S, Schindowski K, Leutner S, Leutz S, Müller WE. Effects of EGb761 Ginkgo bilba extract on mitochondrial function and oxidative stress. Pharmacopsychiatry. 2003;36 Suppl 1:S15-23.
- 17) Abdel-Kader R, Hauptmann S, Keil U, Scherping I, Leuner K, Eckert A, Müller WE. Stabilization of mitochondrial function by Ginkgo bilba extract (EGb761 761). Pharmacol Res. 2007;56(6):493-502.
- 18) Eckert A, Keil U, Scherping I, Hauptmann S, Müller WE. Stabilization of mitochondrial membrane potential and improvement of neuronal energy metabolism by Ginkgo bilba extract EGb761 761. Ann N Y Acad Sci. 2005;1056:474-85.
- 19) Luo Y, Smith JV, Paramasivam V, Burdick A, Curry KJ, Buford JP, Khan I, Netzer WJ, Xu H, Butko P. Inhibition of amyloid-beta aggregation and caspase-3 activation by the Ginkgo bilba extract EGb761 761. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(19):12197-202.
- 20) Augustin S, Rimbach G, Augustin K, Schliebs R, Wolfgram S, Cemek R. Effect of a short- and long-term treatment with Ginkgo bilba extract on amyloid precursor protein levels in a transgenic mouse model relevant to Alzheimer's disease. Arch Biochem Biophys. 2009;481(2):177-82.
- 21) Augustin S, Huebbe P, Matzner N, Augustin K, Schliebs R, Cemek R, Wolfgram S, Rimbach G. Ginkgo bilba extract and its flavonol and terpenolactone fractions do not affect beta-secretase mRNA and enzyme activity levels in cultured neurons and in mice. Planta Med.

- 2008;74(1):6-13.
- 22) Longpré F, Garneau P, Christen Y, Ramassamy C. Protection by EGb761 761 against beta-amyloid-induced neurotoxicity: involvement of NF-kappaB, SIRT1, and MAPKs pathways and inhibition of amyloid fibril formation. *Free Radic Biol Med*. 2006;41(12):1781-94.
- 23) Park YM, Won JH, Yun KJ, Ryu JH, Han YN, Choi SK, Lee KT. Preventive effect of Ginkgo biloba extract (GBE) on the lipopolysaccharide-induced expressions of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 via suppression of nuclear factor-kappaB in RAW 264.7 cells. *Biol Pharm Bull*. 2006;29(5):985-90.
- 24) Kotakidi VS, Jin Y, Hofseth AB, Ying L, Cui X, Volate S, Chumanevich A, Wood PA, Price RL, McNeal A, Singh UP, Singh NP, Nagarkatti M, Nagarkatti PS, Matesic LE, Auclair K, Wargovich MJ, Hofseth LJ. Ginkgo biloba extract EGb761 761 has anti-inflammatory properties and ameliorates colitis in mice by driving effector T cell apoptosis. *Carcinogenesis*. 2008;29(9):1799-806.
- 25) Wadsworth TL, McDonald TL, Koop DR. Effects of Ginkgo biloba extract (EGb761 761) and quercetin on lipopolysaccharide-induced signaling pathways involved in the release of tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Pharmacol*. 2001;62(7):963-74.
- 26) Woo CW, Cheung F, Chan VW, Siow YL, O K. Homocysteine stimulates inducible nitric oxide synthase expression in macrophages: antagonizing effect of ginkgolides and bilobalide. *Mol Cell Biochem*. 2003;243(1-2):37-47.
- 27) Snitz BE, O'Meara ES, Carlson MC, Arnold AM, Ives DG, Rapp SR, Saxton J, Lopez OL, Dunn LO, Sink KM, DeKosky ST; Ginkgo Evaluation of Memory (GEM) Study Investigators. Ginkgo biloba for preventing cognitive decline in older adults: a randomized trial. *JAMA*. 2009;302(24):2663-70.
- 28) Bachinskaya N, Hoerr R, Ihir. Alleviating neuropsychiatric symptoms in dementia: the effects of Ginkgo biloba extract EGb761. Findings from a randomized controlled trial. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2011;7:209-15.
- 29) Birks J, Grimley Evans J. Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 Apr 18;(2):CD003120. Review. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;(1):CD003120.
- 30) Janssen M, Sturtz S, Skipka G, Zentner A, Velasco Garrido M, Busse R. Ginkgo biloba in Alzheimer's disease: a systematic review. *Wien Med Wochenschr*. 2010;160(21-22):539-46.