

银杏根皮化学成分研究 (I)

赵金龙¹, 刘培¹, 段金廛^{1*}, 郭盛¹, 王鑫², 孙光天², 姚鑫¹, 钱叶飞¹

1. 南京中医药大学 江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210023

2. 邳州市银杏科学研究所, 江苏 邳州 221300

摘要: 目的 研究银杏 *Ginkgo biloba* 根皮的化学成分。方法 采用多种柱色谱分离纯化, 通过理化常数测定和波谱分析鉴定化合物结构。结果 从银杏根皮中分离得到 13 个化合物, 其中脂肪酸类 4 个: 棕榈酸 (1)、硬脂酸 (2)、山嵛酸 (3)、木蜡酸 (4); 脂肪醇类 1 个: 正二十七烷醇 (5); 甾体类 2 个: β -谷甾醇 (6)、胡萝卜苷 (7); 黄酮类 2 个: 芫花素 (8)、芹菜素 (9); 萜内酯类 4 个: 白果内酯 (10)、银杏内酯 A (11)、银杏内酯 B (12)、银杏内酯 C (13)。结论 化合物 1~9 为首次从银杏根皮中分离得到, 其中化合物 3~5 为首次从该植物中分离得到, 该研究为银杏根皮资源的综合利用奠定了基础。

关键词: 银杏; 根皮; 山嵛酸; 木蜡酸; 芹菜素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)10-1245-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.10.006

Chemical constituents from root barks of *Ginkgo biloba* (I)

ZHAO Jin-long¹, LIU Pei¹, DUAN Jin-ao¹, GUO Sheng¹, WANG Xin², SUN Guang-tian², YAO Xin¹, QIAN Ye-fei¹

1. Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of Traditional Chinese Medicine Formulae, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Technology Research Institute of Ginkgo, Pizhou 221300, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the root barks of *Ginkgo biloba*. **Methods** The constituents were isolated by column chromatography and their structures were elucidated by physicochemical properties and spectroscopic analyses. **Results** Thirteen compounds were isolated including four fatty acids, palmitinic acid (1), stearic acid (2), behenic acid (3), and lignoceric acid (4); one fatty alcohol, 1-heptacosanol (5); two sterides, β -sitosterol (6) and daucosterol (7); two flavonoids, genkwanin (8) and apigenin (9); and four ginkgolides, bilobalide (10), ginkgolide A (11), ginkgolide B (12), and ginkgolide C (13). **Conclusion** Among them, compounds 3—5 are isolated from this plant for the first time. The results are helpful for the comprehensive utilization of the resources of the root barks of *G. biloba*.

Key words: *Ginkgo biloba* L.; root barks; behenic acid; lignoceric acid; apigenin

银杏 *Ginkgo biloba* L. 又名白果, 为新生代第四纪冰川时期的孑遗植物, 素有“活化石”之称。其叶 (银杏叶)、果 (白果)、根皮 (白果根) 均可药用。银杏根皮入药始载于《重庆草药》^[1]。其味甘, 性温, 归肝、肾二经。有益气补虚的功效。近年来, 对于银杏叶及其提取物相关研究较多^[2], 但是对于银杏根皮的文献研究报道, 多是对其所含内酯类成分的研究^[3]。

据统计, 仅邳州地区, 每年园林绿化、树木移栽, 会产生约 20 t 的银杏根皮, 这些根皮过去多是丢弃在土中任其腐烂分解。近年来, 产地以根皮为

原料, 提取银杏内酯添加到银杏提取物中以增加其量。但除内酯类成分外, 根皮内其他类物质成分尚不明确。为综合利用银杏根皮资源, 本课题组采用中药资源化学的研究思路^[4], 对银杏根皮的化学成分进行了系统的研究, 从银杏根皮中分离得到了 13 个化合物, 分别鉴定为棕榈酸 (palmitinic acid, 1)、硬脂酸 (stearic acid, 2)、山嵛酸 (bhenic acid, 3)、木蜡酸 (lignoceric acid, 4)、正二十七烷醇 (1-heptacosanol, 5)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 6)、胡萝卜苷 (daucosterol, 7)、芫花素 (genkwanin, 8)、芹菜素 (apigenin, 9)、白果内酯 (bilobalide, 10)、

收稿日期: 2013-03-18

基金项目: 国家科技支撑计划 (2011BAI04B03); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目 (ysxk-2010)

作者简介: 赵金龙 (1988—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药资源化学研究。E-mail: zhaokinglong@163.com

*通信作者 段金廛, 教授, 博士生导师。Tel: (025)85811116 E-mail: dja@njutcm.edu.cn

银杏内酯 A (ginkgolide A, **11**)、银杏内酯 B (ginkgolide B, **12**)、银杏内酯 C (ginkgolide C, **13**)。化合物 **1**~**9** 为首次从银杏根皮中分离得到, 其中化合物 **3**~**5** 为首次从该植物中分离得到。脂肪酸, 尤其饱和脂肪酸是神经酰胺的重要组成成分, 可延缓由皮肤层的神经酰胺减少, 造成皮肤的衰老^[5]; 芹菜素可诱导多种肿瘤细胞凋亡^[6]。该研究为进一步深入银杏根皮的资源化利用奠定了基础。

1 仪器与材料

德国 Bruker Avance AV—500/300 核磁共振仪; SynaptTM Q-TOF 飞行时间质谱仪 (Waters 公司); WRS—1B 数字熔点测定仪; 薄层色谱及柱层色谱硅胶 (青岛谱科分离材料有限公司); Waters 2695 高效液相色谱仪; Waters 2424 蒸发光散射检测器; Empower² 色谱工作站; 其余化学试剂为分析纯或色谱纯。

银杏根皮于2012年5月购自邳州市国家级重点银杏良种繁育基地。经南京中医药大学段金廛教授鉴定为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥根皮, 药材标本 (NZYPL-20121115) 存放于南京中医药大学标本馆。

2 提取与分离

取干燥银杏根皮 25 kg, 适度粉碎, 依次用 10 倍量 95%、60% 乙醇渗滤提取, 减压回收乙醇, 所得浓缩液分别用醋酸乙酯萃取 4 次, 合并醋酸乙酯萃取液减压回收溶剂后得浸膏 (682.9 g)。通过硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱 (100:0→0:100), 得到 7 个组分 (Fr. 1~7), Fr. 1 经硅胶柱色谱反复分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱 (100:0→10:1)。得到化合物 **1** (60 mg)、**2** (271 mg)、**3** (57 mg)、**4** (956 mg)、**5** (356 mg)、**6** (766 mg); Fr. 2 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱 (10:1→5:1), 得到化合物 **8** (15 mg); Fr. 3、Fr. 4、Fr. 5 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱 (4:1→3:1), 得到化合物 **9** (34 mg)、**10** (171 mg)、**11** (2 840 mg); Fr. 6 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱 (5:2→1:1), 得到化合物 **12** (2 137 mg)、**13** (5 086 mg); Fr. 7 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱 (1:1→1:2), 得到化合物 **7** (2 350 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (石油醚), mp 57~59 °C。溴酚蓝反应显黄色。ESI-MS m/z : 255 [M-H]⁻。

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 2.35 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.63 (2H, m, H-3), 1.25~1.30 (24H, m, H-4~15), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, H-16)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 与棕榈酸对照品混合后, 熔点不下降, 故鉴定化合物 **1** 为棕榈酸。

化合物 **2**: 白色片状结晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 65~67 °C。溴酚蓝反应显黄色。ESI-MS m/z : 283 [M-H]⁻。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 2.35 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.64 (2H, m, H-3), 1.25~1.30 (28H, m, H-4~17), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, H-18)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **2** 为硬脂酸。

化合物 **3**: 白色片状结晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 79~81 °C。溴酚蓝反应显黄色。ESI-MS m/z 339 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 2.35 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.64 (2H, m, H-3), 1.25~1.30 (36H, m, H-4~21), 0.88 (3H, t, J = 6.5 Hz, H-22)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为山嵛酸。

化合物 **4**: 亮银白色片状结晶 (石油醚), mp 69~71 °C。溴酚蓝反应显黄色。ESI-MS m/z : 367 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 2.35 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.64 (2H, m, H-3), 1.25~1.30 (40H, m, H-4~23), 0.88 (3H, t, J = 6.5 Hz, H-24)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为木蜡酸。

化合物 **5**: 白色粉末 (石油醚), mp 75~77 °C。ESI-MS m/z : 395 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.64 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-1), 1.57 (4H, m, H-2, 3), 1.25~1.30 (46H, m, H-4~26), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, H-27)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为正二十七烷醇。

化合物 **6**: 无色针晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 139~140 °C。薄层色谱行为与 β-谷甾醇对照品一致。混合后熔点不下降, 故鉴定化合物 **6** 为 β-谷甾醇。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇), mp 272~274 °C, 浓 H₂SO₄-EtOH 加热显紫红色斑点, 经与胡萝卜苷对照品共薄层, R_f 值及显色行为一致。混合后熔点不下降, 故鉴定化合物 **7** 为胡萝卜苷。

化合物 **8**: 黄色粉末 (甲醇), mp 255~256 °C。AlCl₃ 乙醇溶液显黄色。ESI-MS m/z 567 [2M-H]⁻, 283 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.95 (1H, s, 5-OH), 10.35 (1H, s, 4'-OH), 7.97 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.84 (1H, s, H-3), 6.77 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.38 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 3.87 (3H, s, 7-OCH₃)。以上数据与文

献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为芫花素。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇), mp 348~350 °C。AlCl₃ 乙醇溶液显黄色。ESI-MS *m/z* 269 [M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.96 (1H, s, 5-OH), 10.79 (1H, s, 7-OH), 10.31 (1H, s, 4'-OH), 7.93 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为芹菜素。

化合物 **10**: 白色针晶 (甲醇), mp > 300 °C (分解)。硫酸不显色, 碘熏后显淡黄色 (在空气中放置渐变为白色)。ESI-MS *m/z*: 879 [2M-H]⁻。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.24 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, 10-OH), 6.27 (1H, s, 8-OH), 5.39 (1H, s, H-12), 5.15 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, H-10), 4.92 (1H, t, *J* = 6.9 Hz, H-6), 2.90 (1H, d, *J* = 18.0 Hz, H-1α), 2.77 (1H, d, *J* = 18.0 Hz, H-1β), 2.56 (1H, dd, *J* = 13.5, 7.2 Hz, H-7α), 2.08 (1H, dd, *J* = 13.5, 7.2 Hz, H-7β), 1.04 (9H, s, H-13~15)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **10** 为白果内酯。

化合物 **11**: 白色针晶 (甲醇), mp > 300 °C (分解)。硫酸不显色, 碘熏后显淡黄色 (在空气中放置渐变为白色)。ESI-MS *m/z*: 815 [2M-H]⁻。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.80 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, 10-OH), 6.36 (1H, s, 3-OH), 6.02 (1H, s, H-12), 4.95 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-6), 4.94 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-10), 4.83 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2), 2.94 (1H, q, *J* = 7.2 Hz, H-14), 2.75 (1H, dd, *J* = 15.3, 7.2 Hz, H-1β), 2.04 (2H, m, H-7), 1.82 (1H, dd, *J* = 15.3, 8.1 Hz, H-1α), 1.71 (1H, t, *J* = 8.7 Hz, H-8), 1.11 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-16), 1.02 (9H, s, H-18~20)。以上数据与文献中报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **11** 为银杏内酯 A。

化合物 **12**: 白色针晶 (甲醇), mp > 300 °C (分解)。硫酸不显色, 碘熏后显淡黄色 (在空气中放置渐变为白色)。ESI-MS *m/z*: 847 [2M-H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.42 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, 10-OH), 6.44 (1H, s, 3-OH), 6.07 (1H, s, H-12), 5.30 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-6), 5.02 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, H-10), 4.91 (1H, d, *J* = 3.5 Hz, 1-OH), 4.64 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-2), 4.05 (1H, dd, *J* = 7.0, 3.5 Hz, H-1β), 2.85 (1H, q, *J* = 7.0 Hz, H-14), 2.14 (1H, dd, *J* = 14.0, 4.5 Hz, H-7β), 1.94 (1H, m, H-7α), 1.72 (1H, dd, *J* = 14.0, 4.5 Hz, H-8), 1.11 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-16),

1.03 (9H, s, H-18~20)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **12** 为银杏内酯 B。

化合物 **13**: 白色针晶 (甲醇), mp > 300 °C (分解)。硫酸不显色, 碘熏后显淡黄色 (在空气中放置渐变为白色)。ESI-MS *m/z*: 879 [2M-H]⁻。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.52 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, 10-OH), 6.46 (1H, brs, 3-OH), 6.10 (1H, s, H-12), 5.64 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, 7-OH), 4.99 (1H, d, *J* = 4.5 Hz, H-10), 4.98 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, H-6), 4.87 (1H, brs, 1-OH), 4.63 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-2), 4.07 (1H, m, H-7α), 3.99 (1H, dd, *J* = 7.2, 3.6 Hz, H-1β), 2.82 (1H, q, *J* = 7.0 Hz, H-14), 1.56 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, H-8), 1.12 (3H, s, H-16), 1.10 (9H, s, H-18~20)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **13** 为银杏内酯 C。

参考文献

- [1] 重庆市卫生局. 重庆草药 (第3集) [M]. 重庆: 重庆人民出版社, 1962.
- [2] van Beek T A, Montoro P. Chemical analysis and quality control of *Ginkgo biloba* leaves, extracts, and phytopharmaceuticals [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2002-2032.
- [3] Maruyama M, Terahara A, Nakanishi K. The ginkgolides I. Isolation and characterization of the various groups [J]. *Tetrahedron Lett*, 1967, 4: 299.
- [4] 段金彪, 宿树兰, 钱大玮, 等. 中药资源化学研究思路方法与进展 [J]. 中国天然药物, 2009, 7(5): 333-340.
- [5] Janusova B, Zbytovska J, Lorenc P, et al. Effect of ceramide acyl chain length on skin permeability and thermotropic phase behavior of model stratum corneum lipid membranes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1811(3): 129-137.
- [6] 刘 军, 阎维维, 刘文博. 芹菜素诱导肺癌 A549 细胞凋亡及其机制研究 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1393-1395.
- [7] 郭 盛, 段金彪, 赵金龙, 等. 酸枣果肉资源化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1905-1909.
- [8] 黄雪峰, 罗 俊, 张 勇, 等. 石刁柏的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(3): 181-184.
- [9] 卢文杰, 牙启康, 陈家源, 等. 黑草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(6): 1079-1081.
- [10] 唐于平, 楼凤昌, 王景华, 等. 银杏叶中黄酮类成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2001, 36(4): 231-233.
- [11] 于德泉, 杨俊山. 分析化学手册: 第七分册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [12] 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, 2(1): 12-15.