

银杏叶中的黄酮醇苷类成分

唐于平*, 王颖, 楼凤昌, 李延芳, 王景华

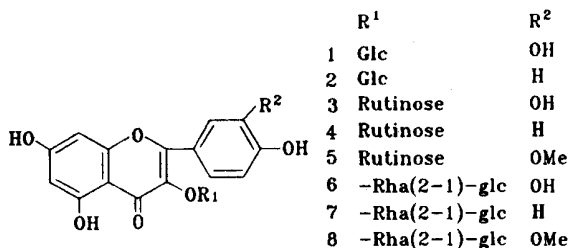
(中国药科大学, 江苏南京 210038)

摘要: 目的 对银杏(*Ginkgo biloba* L.) 叶的化学成分进行分离、鉴定。方法 采用各种色谱技术进行分离, 用 IR, UV, MS, $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$ 和 2DNMR 光谱技术确定化合物的结构。结果 分得 8 个黄酮醇苷类成分: 槲皮素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖苷(1), 山奈酚-3- $O\beta$ -D-葡萄糖苷(2), 芦丁(3), 山奈酚-3- $O\beta$ -D-芸香糖苷(4), 异鼠李素-3- $O\beta$ -D-芸香糖苷(5), 槲皮素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷(6), 山奈酚-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷(7), 异鼠李素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷(8)。结论 化合物 8 为新化合物。

关键词: 银杏叶; 黄酮醇苷; 异鼠李素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷

中图分类号: R284.1; R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2000)05-0363-04

银杏科银杏属植物银杏(*Ginkgo biloba* L.) 又名公孙树, 为世界上仅有的一科一属一种的特殊植物, 主产于江苏、山东、广西等地。自 60 年代以来, 国内外学者对其化学成分、药理作用及临床应用作了大量研究。银杏叶提取物(EBb)及其制剂成为近代国内外研究开发的热点之一。特别由于 EGb 对神经系统的独特作用, 可作为中枢神经赋活剂而用于老年性痴呆(Alzheimer dementia)的防治^[1]。为了进一步阐明其活性成分, 本文对银杏叶提取物进行了化学成分研究, 采用各种色谱技术, 从中分得 8 个黄酮醇苷类成分, 分别鉴定为: 槲皮素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖苷(1), 山奈酚-3- $O\beta$ -D-葡萄糖苷(2), 芦丁(3), 山奈酚-3- $O\beta$ -D-芸香糖苷(4), 异鼠李素-3- $O\beta$ -D-芸香糖苷(5), 槲皮素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷(6), 山奈酚-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷(7), 异鼠李素-3- $O\beta$ -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷(8)。其中化合物 8 为新化合物, 其苷元与糖的连接顺序为先鼠李糖后葡萄糖(见下图)。本文报道化合物结构解析工作。



化合物 8 淡黄色粉末, m_p 169 ~ 171 °C, 盐酸-镁粉反应呈阳性, 紫外光下呈淡棕色荧光, $UV\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 357, 254 为典型的黄酮类化合物的紫外吸收; 红外光谱数据显示有羟基(3415 cm^{-1} , 宽峰), 羰基(1656 cm^{-1})及苷键(1062 cm^{-1} , 宽峰)。将 8 酸水解, 通过 TLC 检查、与对照品对照表明有葡萄糖和鼠李糖存在, 通过 TLC 检查、与对照品对照以及 UV, $^1\text{H NMR}$ 谱与文献^[2]对照表明有异鼠李素存在。ESI-MS 谱显示其分子量为 624, 根据元素分析及 $^{13}\text{C NMR}$, DEPT 谱推定其分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$, $^{13}\text{C NMR}$ 及 DEPT 谱显示其有 2 个甲基(其中 1 个为 OMe), 1 个亚甲基, 15 个叔碳及 10 个季碳信号; ESI-MS 谱中给出分子离子峰 m/z 623[$\text{M}-\text{H}$]⁺ 及碎片离子峰 315[$\text{M}-147-162$]⁺, 即失去 1 个葡萄糖和 1 个鼠李糖后的苷元碎片离子峰。 $^{13}\text{C NMR}$ 谱中 δ 177.4 为 C-4 羰基碳信号, 表明 8 为黄酮醇苷类化合物; $^1\text{H NMR}$ 谱 δ 12.57(s) 表明含有 5-OH, δ 10.82(s) 表明含有 7-OH, 另 δ 9.74(s) 还有 1 个酚羟基信号, δ 3.84(3H, s) 表明含有 1 个甲氧基, 由于 B 环无 AA'BB' 对称峰, 故 B 环可能有两个取代基, 即甲氧基和羟基, 与文献^[3]报道的异鼠李素-3- O -糖苷的苷元光谱数据基本相同。在 $^1\text{H NMR}$ 谱中鼠李糖基的 1-H 信号在 δ 5.64(d, $J=2.0$ Hz), 葡萄糖基的 1-H 信号在 δ 4.38(d, $J=7.1$ Hz), $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 和 TOCSY 实验可对糖基的所有氢信号进行归属(表 1)。在 HMBC 谱中, 鼠李糖的 1-H 与苷元 C-3 (δ 133.2) 有相关关系, 表明苷元的 3 位与鼠李糖的 1 位相连接。从 $^{13}\text{C NMR}$ 谱中可见鼠李糖的 C-2 信号(δ 81.7) 向低场位移 11.3^[4], 在 HMBC 谱中, 鼠

收稿日期: 1999-10-08

*南京市中国药科大学分部 G-05#, Tel: (025) 5322738,

Fax: (025) 5301528, E-mail: ntdeh@cpu.edu.cn

李糖的 2-H(δ 4.10) 与鼠李糖的 C-1(δ 100.7) 和葡萄糖的 C-1(δ 106.0) 都相关,说明葡萄糖的 1 位连接在鼠李糖的 2 位上。化合物 8 与糖基相同的同类化合物山奈酚-3- O - β -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷的光谱比较,数据基本相同^[5],进一步证明本文

结构推导的正确性。综上分析,推定化合物 8 的结构为异鼠李素-3- O - β -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷[isorhamnetin-3- O - β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside]。

Tab 1 ¹³CNMR and ¹HNMR assignments and ¹H-¹³C long range correlation of 8 by HMBC and HMQC in DMSO-d₆

No.	¹³ C	¹ H	Crosspeaks in HMBC spectrum
Aglycone 2	156.6		
3	133.2		
4	177.4		
5	161.2		
6	98.7	6.21(d, 2.0)	93.7(8), 104.0(10), 161.2(5), 164.1(7)
7	164.1		
8	93.7	6.44(d, 2.0)	98.7(6), 104.0(10), 156.4(9), 164.1(7)
9	156.4		
10	104.0		
1'	120.9		
2'	113.6	7.85(d, 2.3)	120.9(1'), 122.3(6'), 146.9(4'), 149.4(3'), 156.6(2)
3'	149.4		
4'	146.9		
5'	115.1	6.88(d, 9.0)	120.9(1'), 122.3(6'), 146.9(4'), 149.4(3')
6'	122.3	7.52(dd, 9.0, 2.3)	113.6(2'), 115.1(5'), 120.9(1'), 146.9(4'), 156.6(2)
3'-OMe	55.7	3.84(s)	149.4(3')
5-OH		12.57(s)	98.7(6), 104.0(10), 161.2(5)
7-OH		10.82(s)	93.7(8), 98.7(6), 164.1(7)
4'-OH		9.74(s)	115.1(5'), 146.9(4'), 149.4(3')
Rhamnose 1	100.7	5.64(d, 2.0)	71.0(rha-5), 81.7(rha-2), 133.2(3)
2	81.7	4.10(br d, 3.0)	70.2(rha-3), 100.7(rha-1), 106.0(glc-1)
3	70.2	3.56(dd, 9.4, 3.1)	72.3(rha-4)
4	72.3	3.16(m)	70.2(rha-3)
5	71.0	3.30(m)	72.3(rha-4)
6	17.7	0.98(3H, d, 6.0)	71.0(rha-5), 72.3(rha-4)
Glucose 1	106.0	4.38(d, 7.1)	74.2(glc-2), 81.7(rha-2)
2	74.2	3.10(m)	106.0(glc-1)
3	76.8	3.16(m)	74.2(glc-2)
4	69.4	3.15(m)	76.6(glc-5), 76.8(glc-3)
5	76.6	3.00(m)	69.4(glc-4), 106.0(glc-1)
6	60.7	3.46(br d)	69.4(glc-4), 76.6(glc-5), 106.0(glc-1)

实验部分

熔点用 X4 型显微熔点测定仪测定,温度未校正;IR 用 Impact-410(Nicolet)型红外光谱仪测定,MeOH 为溶剂;质谱用 VG Quattro 型质谱仪(ESI-MS)测定。¹H, ¹³CNMR 用 Bruker ACF-300, 400 型核磁共振仪测定,内标为 TMS,溶剂为 DMSO-d₆;柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品。银杏叶于 1997 年 11 月采自中国药科大学校园内,经中国药科大学龚祝南博士鉴定。

1 提取与分离

取干燥银杏叶 10 kg,捏碎,用 95% EtOH 30 L 回流提取 3 次,提取液合并,减压浓缩,与硅藻土 1.0 kg 拌样后,置索氏提取器中,依次用石油醚、EtOAc 和 MeOH 各 3 500 mL 回流提取,EtOAc 提取物经硅胶柱色谱分离,CHCl₃-MeOH(9.5:0.5~5:5)梯度洗脱,各馏分经硅胶柱反复色谱分离、纯化,得到化合物 1(200 mg),2(300 mg),3(1.10 g),4(520 mg),5(50 mg),6(20 mg),7(40 mg)和 8(15 mg)。

2 鉴定

化合物 1 淡黄色粉末,mp 159~160℃,盐酸

镁粉反应显粉红色,浓硫酸反应显黄色。IR(KBr) cm^{-1} : 3395, 1656, 1503, 1360, 1199, 1062, 1013, 931, 804。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 257(4.25), 358(4.10)。ESI-MS m/z : 463[$\text{M} - \text{H}$] $^{+}$ 。 ^1H NMR(DMSO- d_6) δ : 12.60(5-OH), 10.80(7-OH), 9.65(3'-OH), 9.14(4'-OH), 7.61(d, $J=2.2$, 2'-H), 7.58(dd, $J=2.2$, 9.0, 6'-H), 6.86(d, $J=9.0$, 5'-H), 6.41(d, $J=2.0$, 8-H), 6.21(d, $J=2.0$, 6-H), 5.47(d, $J=7.4$, 1''-H), 3.10 ~ 3.60(m, sugar protons)。 ^{13}C NMR谱数据见表2。其理化性质、波谱数据与文献^[4]报道一致,故鉴定该化合物为槲皮素-3- O - β - D -葡萄糖苷(querceitin-3- O - β - D -glucoside)。

Tab 2 ^{13}C NMR data of compounds 1 ~ 7 in DMSO d_6

No.	1	2	3	4	5	6	7
2	156.5	156.3	156.8	157.1	157.2	156.6	156.8
3	133.7	133.2	133.5	133.4	133.3	133.3	133.2
4	177.6	177.5	177.6	177.6	177.7	177.4	177.4
5	161.3	161.2	161.4	161.4	161.0	161.2	161.2
6	98.8	98.6	98.9	98.9	99.0	98.7	98.7
7	164.2	164.0	164.2	164.3	164.4	164.0	164.1
8	93.6	93.7	93.8	93.9	94.1	93.6	93.7
9	156.5	156.2	156.6	156.7	156.8	156.4	156.5
10	104.2	104.0	104.2	104.2	104.3	104.0	104.1
1'	121.6	120.9	121.8	121.1	121.4	121.6	120.9
2'	115.3	130.9	115.4	131.1	113.5	115.2	130.9
3'	144.8	115.0	144.9	115.3	149.7	144.7	115.1
4'	148.5	159.0	148.6	160.1	147.2	148.4	159.9
5'	116.5	115.0	116.5	115.3	115.4	116.5	115.1
6'	121.4	130.9	121.4	131.1	122.6	121.2	130.9
3'-OMe					56.0		
1''	101.4	100.9	101.4	101.5	101.5	100.7	100.7
2''	74.3	74.1	74.3	74.4	74.6	81.7	81.8
3''	76.8	76.3	76.6	76.6	76.7	70.2	70.1
4''	70.3	69.8	70.2	70.1	70.4	72.2	72.2
5''	77.5	77.4	76.1	75.9	76.2	71.0	71.0
6''	60.8	60.7	67.2	67.1	67.2	17.7	17.7
1'''			100.9	101.0	101.1	105.9	106.0
2'''			70.6	70.5	70.6	74.1	74.1
3'''			70.7	70.8	70.9	76.9	76.8
4'''			72.0	72.0	72.1	69.4	69.4
5'''			68.4	68.4	68.6	76.6	76.6
6'''			17.9	17.9	18.0	60.8	60.8

化合物2 淡黄色粉末, mp 169 ~ 170 $^{\circ}\text{C}$, 盐酸-镁粉反应显橙红色, 浓硫酸反应显黄绿色。IR(KBr) cm^{-1} : 3433, 1658, 1602, 1499, 1364, 1266, 1180, 1068, 1018, 990, 846。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 266(4.30), 350(4.17)。ESI-MS m/z : 447[$\text{M} - \text{H}$] $^{+}$ 。 ^1H NMR(DMSO- d_6) δ : 12.62(5-OH), 10.86(7-OH), 10.17(4'-OH), 8.04(d, $J=8.8$, 2', 6'-H), 6.89(d, $J=8.8$, 3', 5'-H), 6.45(d, $J=1.6$, 8-H), 6.22(d, $J=1.6$, 6-H), 5.46(d, $J=7.3$, 1''-H), 3.07 ~ 3.58(m, sugar protons)。 ^{13}C NMR谱数据见表2。

其理化性质、波谱数据与文献^[4]报道一致,故鉴定该化合物为山奈酚-3- O - β - D -葡萄糖苷(kaempferol-3- O - β - D -glucoside)。

化合物3 淡黄色粉末, mp 167 ~ 168 $^{\circ}\text{C}$, 盐酸-镁粉反应显紫红色, 浓硫酸反应显亮黄色。IR(KBr) cm^{-1} : 3422, 1658, 1602, 1502, 1362, 1296, 1062, 1018, 810, 804。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 258(4.27), 357(4.11)。ESI-MS m/z : 609[$\text{M} - \text{H}$] $^{+}$ 。 ^1H NMR(DMSO- d_6) δ : 12.60(5-OH), 10.82(7-OH), 9.65(3'-OH), 9.15(4'-OH), 7.56(d, $J=2.0$, 2'-H), 7.55(dd, $J=2.0$, 9.0, 6'-H), 6.85(d, $J=9.0$, 5'-H), 6.39(d, $J=1.9$, 8-H), 6.20(d, $J=1.9$, 6-H), 5.35(d, $J=7.3$, 1''-H), 4.40(d, $J=1.3$, 1'''-H), 3.06 ~ 3.73(m, sugar protons), 0.999(3H, d, $J=6.2$, 6'''-H)。 ^{13}C NMR谱数据见表2。其理化性质、波谱数据与文献^[4]报道一致,故鉴定该化合物为芦丁(rutin)。

化合物4 黄色粉末, mp 171 ~ 173 $^{\circ}\text{C}$, 盐酸-镁粉反应显粉红色, 浓硫酸反应显黄色。IR(KBr) cm^{-1} : 3416, 1660, 1489, 1360, 1288, 1180, 1068, 1012, 970, 836。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 266(4.33), 348(4.14)。ESI-MS m/z : 593[$\text{M} - \text{H}$] $^{+}$ 。 ^1H NMR(DMSO- d_6) δ : 12.57(5-OH), 10.89(7-OH), 10.16(4'-OH), 7.99(d, $J=8.8$, 2', 6'-H), 6.88(d, $J=8.8$, 3', 5'-H), 6.42(d, $J=1.9$, 8-H), 6.21(d, $J=1.9$, 6-H), 5.31(d, $J=7.3$, 1''-H), 4.37(d, $J=1.2$, 1'''-H), 3.05 ~ 3.70(m, sugar protons), 0.979(3H, d, $J=6.1$, 6'''-H)。 ^{13}C NMR谱数据见表2。其理化性质、波谱数据与文献^[4]报道一致,故鉴定该化合物为山奈酚-3- O - β - D -芸香糖苷(kaempferol-3- O - β - D -rutinoside)。

化合物5 淡黄色粉末, mp 168 ~ 169 $^{\circ}\text{C}$, 盐酸-镁粉反应显紫红色, 浓硫酸反应显黄色。IR(KBr) cm^{-1} : 3420, 1659, 1602, 1503, 1361, 1290, 1064, 1015, 820。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 253(4.25), 358(4.03)。ESI-MS m/z : 623[$\text{M} - \text{H}$] $^{+}$ 。 ^1H NMR(DMSO- d_6) δ : 12.59(5-OH), 10.89(7-OH), 9.83(4'-OH), 7.86(d, $J=1.8$, 2'-H), 7.51(dd, $J=1.8$, 8.4, 6'-H), 6.90(d, $J=8.4$, 5'-H), 6.44(d, $J=1.9$, 8-H), 6.21(d, $J=1.9$, 6-H), 5.44(d, $J=7.1$, 1''-H), 4.41(d, $J=1.4$, 1'''-H), 3.83(3'-OMe), 3.05 ~ 3.78(m, sugar protons), 0.982(3H, d, $J=6.1$, 6'''-H)。 ^{13}C NMR谱数据见表2。其理化性质与波谱数据与文献^[3]报道一致,故鉴定该化合物为异鼠李素-3- O -

β -D-芸香糖苷(isorhamnetin-3-O- β -D-rutinoside)。

化合物 6 淡黄色粉末, mp 168 ~ 169 °C, 盐酸-镁粉反应显紫红色, 浓硫酸反应显黄色。IR(KBr) cm^{-1} : 3422, 1658, 1602, 1500, 1360, 1296, 1061, 1020, 810。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 257 (4.26), 262 (sh, 4.00), 302 (sh, 3.35), 350 (4.09)。ESI-MS m/z : 609 [M-H]⁺。¹H NMR(DMSO-d₆) δ : 12.60 (5-OH), 10.80 (7-OH), 9.64 (3'-OH), 9.15 (4'-OH), 7.55 (d, J = 1.6, 2'-H), 7.54 (dd, J = 1.6, 9.1, 6'-H), 6.84 (d, J = 9.1, 5'-H), 6.39 (d, J = 1.1, 8-H), 6.20 (d, J = 1.1, 6-H), 5.53 (d, J = 2.0, 1''-H), 4.38 (d, J = 7.0, 1'''-H), 4.24 (m, 2''-H), 3.07 ~ 3.83 (m, sugar protons), 0.994 (3H, d, J = 6.1, 6''-H)。¹³C NMR谱数据见表 2。其理化性质、波谱数据与文献^[6]报道一致, 故鉴定该化合物为槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷[quercetin-3-O- β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside]。

化合物 7 黄色粉末, mp 170 ~ 172 °C, 盐酸-镁粉反应显粉红色, 浓硫酸反应显黄色。IR(KBr) cm^{-1} : 3415, 1660, 1488, 1360, 1287, 1180, 1069, 1010, 971, 835。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 267(4.29), 298(sh, 3.20), 346(4.17)。ESI-MS m/z : 593 [M-H]⁺。¹H NMR(DMSO-d₆) δ : 12.56 (5-OH), 10.82 (7-OH), 10.10 (4'-OH), 7.99 (d, J = 7.0, 2', 6'-H), 6.88 (d, J = 7.0, 3', 5'-H), 6.42 (d, J = 2.0, 8-H), 6.21 (d, J = 2.0, 6-H), 5.64 (d, J = 1.3, 1''-H), 4.38 (d, J = 7.3, 1'''-H), 4.25 (m, 2''-H), 3.08 ~ 3.76 (m, sugar protons), 0.987 (3H, d, J = 6.2, 6''-H)。¹³C NMR谱数据见表 2。其理化性质、波谱数据与文

献^[6]报道一致, 故鉴定该化合物为山奈酚-3-O- β -D-葡萄糖基(1-2)- α -L-鼠李糖苷[kaempferol-3-O- β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside]。

化合物 8 淡黄色粉末, mp 170 ~ 172 °C, 盐酸-镁粉反应显紫红色, 浓硫酸反应显黄色。ESI-MS m/z : 623 [M-H]⁺。元素分析计算值%: C 53.84, H 5.17; 理论值%: C 53.85, H 5.16。IR(KBr) cm^{-1} : 3415, 1656, 1602, 1500, 1360, 1288, 1062, 1014, 819。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 254(4.24), 357(4.03)。¹H NMR和¹³C NMR谱数据见表 1。

参考文献:

- [1] Bars PLL, Katz MM, Berman N, *et al.* A placebo-controlled, double-blind, randomized trial of an extract of *Ginkgo biloba* for dementia [J]. *J Am Med Assoc* (Chin Ed), 1997, **278**: 1327.
- [2] Valesi AG, Rodriguez E, Velde GV, *et al.* Methylated flavonols in *Larrea cuneifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1972, **11**: 2821.
- [3] Victoire C, Berrurier MH, Guth AL, *et al.* Isolation of flavonol glycosides from *Ginkgo biloba* leaves [J]. *Planta Med*, 1988, **54**: 245.
- [4] Markham KR, Ternai B, Stanley R, *et al.* Carbon-13 NMR studies of flavonoids-III naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, **34**: 1389.
- [5] Markham KR, Geiger H, Jaggy H. Kaempferol-3-O-glucosyl(1-2) rhamnoside from *Ginkgo biloba* and a reappraisal of other gluco(1-2, 1-3 and 1-4) rhamnoside structures [J]. *Phytochemistry*, 1992, **31**: 1009.
- [6] Hasler A, Gross GA, Meier B, *et al.* Complex flavonol glycosides from the leaves of *Ginkgo biloba* [J]. *Phytochemistry*, 1992, **31**: 1391.

FLAVONOL GLYCOSIDES FROM THE LEAVES OF GINKGO BILOBA

TANG Yir Ping, WANG Ying, LOU Feng-Chang, LI Yarr Fang, WANG Jing Hua

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

ABSTRACT: AIM Isolation and structural elucidation of the constituents from leaves of *Ginkgo biloba*. **METHODS** To isolate chemical constituents, solvent extraction together with column chromatography was used. IR, UV, MS and NMR spectra were employed for structural identification. **RESULTS** Eight flavonol glycosides were isolated. They were elucidated as quercetin-3-O- β -D-glucoside (1), kaempferol-3-O- β -D-glucoside (2), rutin (3), kaempferol-3-O- β -D-rutinoside (4), isorhamnetin-3-O- β -D-rutinoside (5), quercetin-3-O- β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside (6), kaempferol-3-O- β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside (7) and isorhamnetin-3-O- β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside (8). **CONCLUSION** Compound 8 was shown to be a new compound.

KEY WORDS: *Ginkgo biloba*; flavonol glycosides; isorhamnetin-3-O- β -D-glucosyl(1-2)- α -L-rhamnoside