

# 高含量银杏萜内酯富集方法研究\*



郁 青, 沈兆邦, 袁跃平, 谭卫红, 王成章, 陈 祥

(中国林业科学研究院林产化学工业研究所, 江苏 南京 210042)

YU Q.

摘 要: 采用稀醇提取、树脂吸附和溶剂萃取的组合新工艺, 将萜内酯含量从仅千分之几的银杏叶中富集到纯度 70% 以上, 萜内酯回收率达 68%。

关键词: 银杏; 萜内酯; 银杏内酯; 白果内酯

中图分类号: S 792. 95 文献标识码: A 文章编号: 0253-2417(2000)02-0001-04

银杏萜内酯包括银杏内酯(ginkgolides A. B. C. J. M, 属二萜类化合物)和白果内酯(bilobalide, 属倍半萜类化合物), 其结构式如图 1, 这是一类少见的银杏(*Ginkgo biloba* L.) 植物所独有的天然化合物, 是银杏叶提取物(GBE)的主要活性成分之一<sup>[1-4]</sup>。

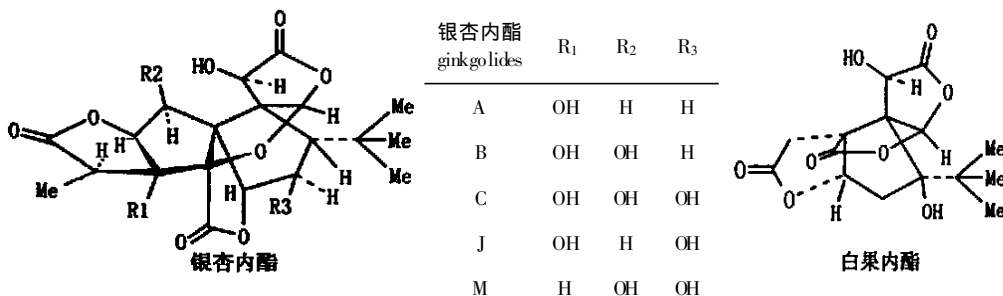


图 1 银杏萜内酯化合物分子结构示意图

Fig. 1 Chemical structures of terpenelactone of *G. biloba*

国外学者对银杏萜内酯的药理研究发现, 萜内酯尤其是银杏内酯 B (BN 52021) 是一类高效的血小板活化因子(PAF)受体拮抗剂。血小板活化因子是由血小板和多种炎症组织分泌产生的一种内源性磷脂, 是迄今发现的最有效的血小板聚集诱导剂, 它与许多疾病的产生、发展密切相关。银杏内酯目前被认为是最有临床应用前景的天然 PAF 受体拮抗剂。药理研究表明, 银杏内酯在血栓、心脑血管疾病、心律失常、哮喘、支气管炎、老年性痴呆症、过敏

\* 收稿日期: 1999-06-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 39470572。

作者简介: 郁 青(1940-), 男, 江西安福县人, 研究员, 长期从事天然植物产品的开发及工业化研究。

反应等的预防和治疗具有一定作用<sup>[5~6]</sup>。

基于国内外学者对银杏萜内酯药理、生理作用研究的深入,人们对萜内酯获取途径尤为关注。1987年 Pierre 等用化学方法成功地合成了银杏内酯 B<sup>[7]</sup>;1993年 Crimins 等在实验室合成了白果内酯<sup>[8]</sup>。因工艺十分复杂,产品价格昂贵。从1987年起,瑞士的 J.P. 巴尔兹采用生物技术获取萜内酯,经多年努力也获得成功,但成本高,没有推广价值<sup>[9]</sup>。较为经济可行的方法是筛选萜内酯含量高的银杏叶品种<sup>[10]</sup>,建立药用银杏叶基地,寻求一种从优质银杏叶中富集萜内酯的简易方法。本文介绍了从萜内酯含量中等的银杏叶或市场上购买的银杏叶提取物中采用树脂吸附和溶剂萃取等组合新工艺,可把萜内酯含量提高到70%以上的研究结果。

## 1 实验部分

### 1.1 原料、试剂、树脂、标准样及仪器

原料:银杏叶由我国主要银杏叶产区提供。

试剂:甲醇、乙酸乙酯、正己烷、盐酸等均为分析纯,工艺采用以粮食为原料生产的乙醇。

树脂:聚酰胺,常州澡江化工厂生产;DM-130,山东鲁抗制药公司树脂分厂生产。

标准样:银杏内酯 ginkgolide A. B. C,白果内酯 bilobalide 均匀美国 SIGMA 公司产品。

仪器:高效液相色谱仪 LC-10A,带示差折光检测和数据处理机,日本岛津公司。

### 1.2 分析方法

采用 HPLC 法示差折光检测银杏萜内酯含量<sup>[11]</sup>。以苜醇为内标;色谱柱为 10  $\mu$ m Spherisorb C<sub>18</sub>,  $\phi$ 4.6 mm  $\times$  200 mm 硅胶柱(中科院大连化物所产);流动相:甲醇/水=33/67 (v/v);流速:1.0 mL/min;测定白果内酯、银杏内酯的校准因子分别为 1.11、1.12、1.16、1.26,根据内标的积分值计算各内酯含量,萜内酯总含量为以上4种内酯的总和。

### 1.3 工艺条件

1.3.1 提取 将银杏叶破碎至大小为 0.5~1.5 cm 的碎块,加浓度为 40%~50% 乙醇水溶液提取两次,溶剂用量(体积)分别为叶重的 8 倍和 6 倍,提取时间分别为 3 h 和 2 h,提取温度为 80  $^{\circ}$ C。合并两次提取液,减压浓缩,生产中以回收完乙醇为准,实验中则干燥成粉,计算粗提物 A 得率,取样用 HPLC 分析萜内酯含量。

1.3.2 精制 称取若干克粗提物 A 粉末,溶于稀乙醇水溶液中,浓缩挥去乙醇后加入适量的氯化钠,用醋酸乙酯萃取 3 次,合并萃取液,浓缩蒸发有机溶剂得萃取物 B;将萃取物 B 变成水溶液上 DM-130 柱精制,得 130 柱精制品 C;将精制品 C 变成水溶液上聚酰胺柱精制,得聚酰胺柱精制品 D;将精制品 D 再变成水溶液,加适量的盐,用正己烷与乙酸乙酯混合溶剂萃取 3 次,合并萃取液,浓缩挥去有机溶剂干燥得产品 E。

## 2 结果与讨论

2.1 选用不同含量萜内酯的银杏叶采用本工艺进行提取实验,结果列表 1。

从表 1 的实验数据看出,选用不同质量的银杏叶,用本工艺提取所得粗提物得率基本相同,约 22.0%~23.0%,但粗提物萜内酯含量差异却很大,低的仅 0.30%,高的达 1.96%,相

差 6.5 倍。同时还看出, 银杏叶质量越好, 萜内酯的回收率越高, 一般可达 80% 以上。

2.2 采用萜内酯含量为 1.50% 的银杏叶粗提物进行精制试验, 精制每步所得中间产品均计量并用 HPLC 分析总内酯含量, 结果列表 2。

表 2 实验结果显示, 精制工艺中有三步可使萜内酯含量提高幅度较大。即一步是由粗提物 A 到萃取物 B, 萜内酯含量提高了 16.45%。乙酸乙酯是萃取银杏萜内酯最好的溶剂之一, 直接用乙酸乙酯萃取, 可使粗提物 A 萜内酯含量由 1.5% 提高至萃取物 B 萜内酯含量 15% 左右, 若在水相中加入适量的无机盐后萃取, 则萃取物 B 萜内酯含量可提高到 18% 左右。在水相中加入适量的盐, 增大了水相的密度和极性, 从而减少了银杏萜内酯在水相中的溶解度, 有利于溶剂的萃取; 第二步是由 130 柱精制品 C 到聚酰胺柱精制品 D, 萜内酯含量提高了 18.15%, 这一步主要是利用聚酰胺树脂只吸附杂质不吸附萜内酯的特性而使萜内酯得到进一步精制; 第三步是由聚酰胺柱精制品 D 到萃取物 E, 萜内酯含量提高的幅度更大, 达 34.0%, 这一步采用了水相中加适量的盐, 用乙酸乙酯和正己烷混合溶剂萃取的新工艺。溶剂的混合比例恰当时, 对银杏萜内酯的萃取效果更佳。

表 1 银杏叶质量对萜内酯提取的影响

Table 1 Effect of quality of *Ginkgo biloba* leaves on terpenelactone extraction

银杏叶中萜内酯含量(%) contents of terpenelactone in <i>G. biloba</i> leaves	银杏叶粗提物 A raw extract A of <i>G. biloba</i> leaves (%)		
	对叶得率 yield	萜内酯含量 contents of terpenelactone	萜内酯回收率 recovery yield of terpenelactone
0.10	22.0	0.30	66.0
0.21	22.5	0.70	75.0
0.30	23.0	1.05	80.5
0.40	22.0	1.50	82.5
0.54	22.8	1.96	83.6

表 2 各步精制工艺对银杏萜内酯富集的影响

Table 2 Effect of each step of refinement technique on terpenelactone enrichment

中间产品名称 middle products name	萜内酯含量(%) contents of terpenelactone	萜内酯回收率(%) recovery yield of terpenelactone
粗提物 A raw extract	1.50	82.5
萃取物 B extract	17.95	98.1
130 柱精制品 C 130 column refined	23.95	95.6
聚酰胺柱精制品 D polyacrylamide column refined	42.1	96.7
萃取物 E extract	76.1	91.8

经过对每步精制工艺的精心设计和五步精制工艺的组合, 可使银杏叶中萜内酯含量的 0.40% 富集到 76.1%, 萜内酯的总回收率高达 68%。

2.3 以萜内酯含量 1.50% 的粗提物 A 为原料, 用本精制工艺进行了 6 次精制试验, 结果列表 3。

6 次平行试验, 其产品萜内酯含量均在 70% 以上, 对原料叶而言, 萜内酯总回收率平均为 68.2%, 稳定性好, 而且工艺中的每一步均易工业化。

### 3 结论

3.1 选用高含量萜内酯的银杏叶作为富集萜内酯的原料十分重要, 优质原料不仅使萜内酯

产量大幅度提高,而且易于精制,大大降低生产成本。

3.2 采用本精制工艺,用优质银杏叶作原料,可使萜内酯含量富集到70%以上,萜内酯总回收率达68%,工艺较简便,易工业化。

表3 精制工艺试验的稳定性

Table 3 Stability of refinement technique tests

试验次数 times of experiment	萜内酯含量(%) content of terpenelactone	萜内酯总回收率(%) total recovery yield of terpenelactone
1	71.63	68.5
2	72.14	67.2
3	75.91	68.1
4	72.18	68.1
5	75.14	69.0
6	76.83	68.6

### 参 考 文 献

- [1] MARUYAMA M, et al. [J]. Tetrahedron Letters, 1976, (4): 299~ 326.
- [2] WEINGES K, et al. [J]. Liebigs Ann. Chem., 1969, 724: 214.
- [3] NAKANISHI K. [J]. J. Am. Chem. Soc., 1971, 93(4): 3544.
- [4] 杨世林,等. [C]. '97 银杏国际研讨会论文集, 1997: 43~ 49.
- [5] 德福迪斯. F V. [C]. '97 银杏国际研讨会论文集, 1997: 29~ 34.
- [6] 陈维军,等. [J]. 中国药学杂志, 1998, 33(9): 516~ 519.
- [7] PIERRE Braquet. [J]. Drugs of the Future, 1987, 12(7): 643~ 699.
- [8] CRIMMINS M T. [J]. J. Am. Chem. Soc., 1993, 115(8): 3146.
- [9] 巴尔兹 J P. [C]. '97 银杏国际研究会论文集, 1997, 60~ 62.
- [10] 郁青,沈兆邦,等. 银杏叶内酯含量的变化规律研究[J]. 林产化学与工业. 1998. 18(4): 1~ 6.
- [11] VAN Beek T A, et al. [J]. J. Chromatography, 1991, 543: 375~ 387.

## STUDY ON ENRICHMENT METHOD FOR HIGH CONTENT TERPENELACTONE OF *GINKGO BILOBA*

YU Qing, SHEN Zhao-bang, YUAN Yue-ping, TAN Wei-hong, WANG Cheng-zhang, CHEN Xiang

(Research Institute of Chemical Processing and Utilization of Forest Products, CAF,  
Nanjing 210042, China)

**Abstract:** A simple preparative method for enrichment of terpenelactone from *G. biloba* leaves was developed. As starting material, *G. biloba* leave containing 0.4% terpenelactone was used. A final product containing over 70% terpenelactones was obtained by extraction with organic solvent and adsorption with resins, total revival yield of terpenelactones was 68%.

**Key words:** *Ginkgo biloba* L.; terpenelactone; ginkgolides; bilobalide.