

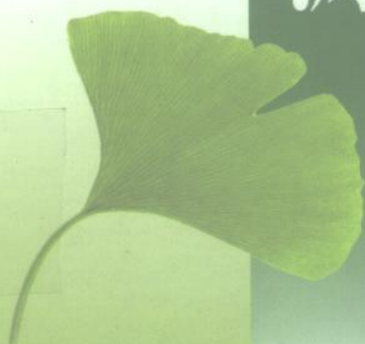
张迪清 何照范 著

Zhang Diqing He Zhaofan Zhu

# 银杏叶资源

YINXINGYE ZIYUAN HUAXUE YANJIU

# 化学研究



中国轻工业出版社

ZHONGGUO QINGGONGYE CHUBANSHE

# 银杏叶资源化学研究

---

● 张迪清 何照范 著

 中国轻工业出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

银杏叶资源化学研究/张迪清, 何照范著. - 北京: 中国轻工业出版社, 1999.8 (2000.3 重印)

ISBN 7-5019-2543-7

I. 银… II. ①张… ②何… III. 银杏-树叶-中药化学成分-研究 IV. R282.71

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 21776 号

责任编辑: 沈力匀

策划编辑: 沈力匀

责任终审: 滕炎福

封面设计: 崔云

版式设计: 智苏亚

责任校对: 燕杰

责任监印: 胡兵

\*

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号) 邮编: 100740

印刷: 中国人民警官大学印刷厂

经销: 各地新华书店

版次: 1999 年 8 月第 1 版 2000 年 3 月第 2 次印刷

开本: 850×1168 1/32 印张: 6.25

字数: 162 千字 插页: 1 印数: 2001—3500

书号: ISBN 7-5019-2543-7/TS·1543 定价: 20.00 元

·如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换·

## 前言

KG-23 / 111

银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 是冰川时期存活在地球上的孑遗植物, 素有“活化石”之称。中国是银杏的发源地, 其资源占世界总量的 70% 左右。银杏集食用、药用、材用、绿化美化环境于一体, 被誉为“东方的圣者, 是中国人文的有生命的纪念塔, 堪称为中国的国树”。宋健同志在 1997 年召开的 '97 银杏国际研讨会上对银杏资源开发利用前景做了精辟的论述: “银杏是神奇的大自然赐予人类的宝贵财富, 这一珍贵的物种在经历了一亿五千万年的沧桑轮回之后, 在现代科学技术的作用下, 正焕发出蓄积已久的光彩, 服务于人类的健康和文明”。

20 世纪 60 年代初, 德国 Willamar Schwabe 首次从银杏叶中获得银杏提取物 (EGb761), 并用于治疗心脑血管疾病和神经系统疾病, 具有显著的疗效, 且无明显的毒副作用。银杏内酯具有显著的抗血小板活化因子 (PAF) 等重要的生理活性, 使人们对银杏叶的保健药用价值更加重视。当今国内外掀起了银杏叶研究开发的热潮, 未来银杏叶开发的潜力, 发展前景已成为世界范围内研究开发方面的专家、企业家关注的热点。为了开发利用优势银杏叶资源、发展银杏叶深加工高新技术产业, 作者从 1988 年开始, 对银杏叶中活性成分提取、分离及检测方法进行了系统深入的研究, 1996 年又承担主持了贵州省“九五”重大攻关课题“贵州优势银杏叶资源开发利用研究”。获得了从实验室研究、中试及工业化生产等方面的一系列科研成果。其中第四代银杏提取物 (GBE) 生产新工艺, 高纯度萜内酯及单体 (组分) 分离, 聚异戊烯醇、GBE、萜内酯综合生产工艺, GBE 脱银杏酸及检测技

术等方面都有创新，并有重大突破。

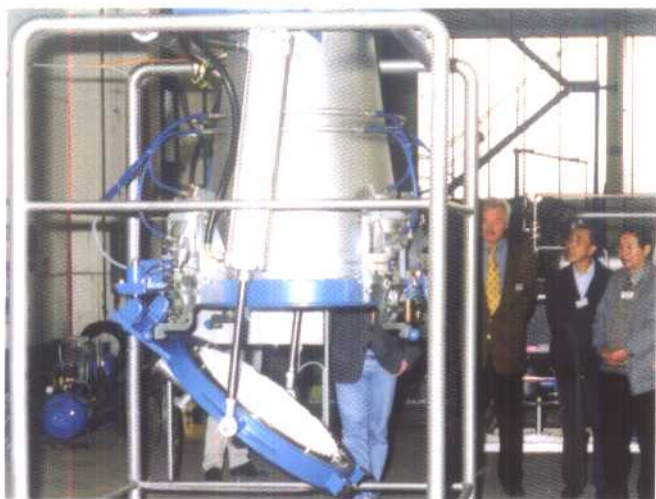
本专著是作者集 10 年来研究银杏叶深加工成果，倾注了辛勤劳动和科研实践智慧的结晶，现将它奉献给社会。书中主要论述了银杏叶化学成分、营养、保健及药用成分分析；银杏黄酮、萜内酯、聚异戊烯醇、银杏酸等分离及检测技术；银杏叶中主要活性成分变化规律的探讨等，是一本有重要学术价值和实用性强的专著。由于作者研究实践的局限性和撰写时间的仓促，其中可能有不妥，乃至错误之处，敬请同行指正。

本专著得到了贵州省科委、贵州大学领导、专家及课题组同仁的支持和帮助，在此致以最衷心的感谢！

作者于贵阳花溪

1999 年 6 月

62.26



何照范教授(中间)于1998年4月在德国施拉德公司(Schrader GMBH)考察银杏叶提取物设备



张迪清先生在进行银杏提取物(GBE)中试产品调试



贵州大学生化中试基地多功能中试车间一角



贵阳鑫煤生化制品有限公司 GBE 生产车间一角  
(贵州大学生化营养研究所提供全套技术)

# 目 录

|                                       |        |
|---------------------------------------|--------|
| 1. 银杏叶主要化学成分的研究 .....                 | ( 1 )  |
| 2. 银杏叶营养及功能成分的分析 .....                | ( 12 ) |
| 3. 银杏黄酮苷 HPLC 测定方法的研究 .....           | ( 20 ) |
| 4. 银杏萜内酯 HPLC 测定方法的研究 .....           | ( 30 ) |
| 5. 银杏聚异戊烯醇及其乙酸酯含量测定方法的研究 .....        | ( 40 ) |
| 6. 白果酸 HPLC 法测定方法的研究 .....            | ( 50 ) |
| 7. GBE 提取工艺的研究 .....                  | ( 57 ) |
| 8. GBE 生产中试工艺的设计与实施 .....             | ( 68 ) |
| 9. GBE 工业化生产的设计与实施 .....              | ( 87 ) |
| 10. GBE 提取新工艺的研究 .....                | (106)  |
| 11. GBE 脱银杏酸工艺的研究 .....               | (112)  |
| 12. GBE 脱银杏酸中试工艺的研究 .....             | (117)  |
| 13. 三柱法提取银杏萜内酯工艺的研究 .....             | (129)  |
| 14. 银杏萜内酯提取新工艺的研究 .....               | (136)  |
| 15. 银杏萜内酯中试工艺的设计与实施 .....             | (143)  |
| 16. 银杏聚异戊烯醇提取工艺的研究 .....              | (157)  |
| 17. 银杏年生长长期叶中黄酮苷和萜内酯变化规律的<br>研究 ..... | (163)  |
| 18. 聚异戊烯醇、GBE、萜内酯提取综合工艺的研究 .....      | (171)  |
| 19. 银杏叶中黄酮苷、萜内酯含量统计分析 .....           | (179)  |

## 1 银杏叶主要化学成分的研究

自 20 世纪 60 年代开始,许多国家采用现代分离技术对银杏叶的化学成分进行研究,经药理实验和临床验证,发现银杏叶的多方面生物活性与其所含特定化学成分有关。德国 Willamar Schwabe 首次注册了银杏叶的一种简单提取物,并于 1972 年申请了专利 (W Schwabe DE 176708 和 DE 2117429),定名为 EGb761,将其用于治疗心脑血管疾病和神经系统疾病,具有显著疗效,且无毒副作用;银杏内酯类化合物 (ginkgolides) 具有增强血小板活化因子 (PAF) 拮抗的作用。将银杏制剂列为治疗药物的国家有德国、法国和中国,其他国家均只将其用为保健食品或非处方用药。美国开发出的银杏保健食品已经获得 FDA 的批准,使人们对银杏叶的保健药用价值更加重视,对银杏叶化学成分研究也越来越深入。最近不断从银杏叶中发现一些新的生物活性成分。迄今为止,从银杏叶中已经发现了 100 多种化学成分。这些化学成分主要有黄酮苷类 (flavonoidglycosides)、萜内酯类 (terpenoids)、聚异戊烯醇类 (polyprenols)、6-羟基犬尿唑啉酸 (6-hydroxykynurenic acid, 6HKA)、有机酸、银杏酚酸类 (phenolic acids) 及烷基酚、烷基酚酸 (又称银杏酸, ginkgolic acids)、4'-甲氧基吡哆醇 (4'-O-methypyridoxine) 等<sup>[1~6]</sup>。本书就近年来已发表的有关银杏叶化学研究的部分文献及作者 10 年来研究成果分述如下。

1107941

## 1.1 黄酮类化合物

### 1.1.1 组成及结构

银杏叶中黄酮类化合物 (flavonoids) 可分为黄酮、双黄酮和儿茶素等三类化合物, 共有 36 种, 主要以苷的形式存在, 是银杏叶的主要药理成分之一, 含量较高, 在银杏叶中含量变化较大。据作者对贵州等地 330 份样品及银杏叶生长发育期间黄酮苷含量的检测分析表明: 不同地区、各单株之间变化幅度在 0.2% ~ 2.74%; 叶中黄酮苷含量 > 0.8% 者占测定数的 48.0%; 不同生育期间叶中黄酮苷含量相差 2 倍左右, 4 月份含量最高, 4~6 月份呈下降趋势, 6 至 10 月含量变化不明显。

1.1.1.1 银杏黄酮: 银杏黄酮的苷元有 7 种, 即槲皮素 (quercetin)、山奈素 (kaempferol)、异鼠李素 (isorhamnetin)、杨梅素 (myricetin)、芹菜素 (apigenin)、木犀草素 (luteolin)、三粒小麦黄酮 (trictetin) 等, 前三种是其主要成分。银杏叶及其提取物 (GBE) 的质量控制中主要检测这三种黄酮苷元的含量。

银杏黄酮又称单黄酮, 银杏叶中 3 种主要单黄酮类的结构如图 1-1 所示。

银杏黄酮中, 槲皮素类的化合物有 9 个, 其糖基主要是葡萄糖和鼠李糖基, 有些糖基上还连接有肉桂酰基。山奈素比槲皮素在 3' 位少一个酚羟基, 极性较小, 银杏叶中山奈素类化合物有 8 个。异鼠李素是槲皮素的 3' 上羟基被甲基化的衍生物, 银杏叶中异鼠李素化合物有 4 个。

1.1.1.2 双黄酮: 银杏叶中的双黄酮是由两分子黄酮母核通过 C—C 键聚合而成的一类化合物, 一共有 6 种, 即银杏素 (ginkgetin), 异银杏素 (isogenkgetin)、穗花杉双黄酮

(amentoflavone)、金钱松双黄酮 (sciadoputydin)、去甲银杏双黄酮 (bilobetin)、5'-甲氧基去甲银杏双黄酮 (5'-methoxybilobetin) 等。其结构式如图 1-2 所示:

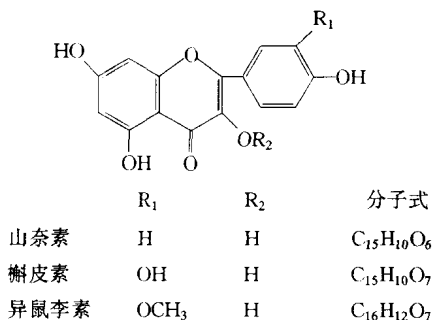
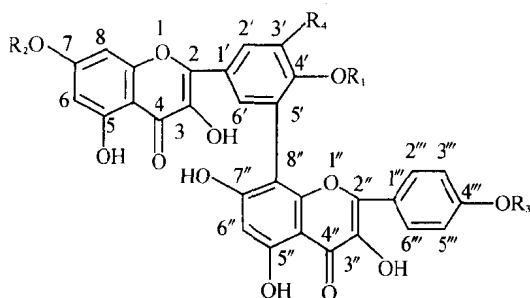


图 1-1 银杏叶中 3 种主要单黄酮类的结构



|                                        | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub>  | R <sub>3</sub>  | R <sub>4</sub>   |
|----------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 银杏素 (ginkgetin)                        | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | H                |
| 异银杏素 (isogenkgetin)                    | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H                |
| 槲花杉双黄酮 (amentoflavone)                 | H               | H               | H               | H                |
| 去甲银杏双黄酮 (bilobetin)                    | CH <sub>3</sub> | H               | H               | H                |
| 金钱松双黄酮 (sciadoputydin)                 | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H                |
| 5'-甲氧基去甲银杏双黄酮<br>(5'-methoxybilobetin) | CH <sub>3</sub> | H               | H               | OCH <sub>3</sub> |

图 1-2 银杏中双黄酮的结构

1.1.1.3 儿茶素类: 儿茶素类化合物具有治疗肝中毒的作用和抗肿瘤活性。银杏叶中的儿茶素类化合物有 6 种, 即儿茶素

(catechin)、表儿茶素 (epicatechin)、没食子酸儿茶素 (gallocatechin)、表没食子儿茶素 (epigallocatechin)、4,8''-儿茶素没食子儿茶素 (4,8''-catechingallocatechin) 和 4-8''-没食子儿茶素没食子儿茶素 (4,8''-gallocatechingallocatechin)。儿茶素、表儿茶素的结构如图 1-3 所示。

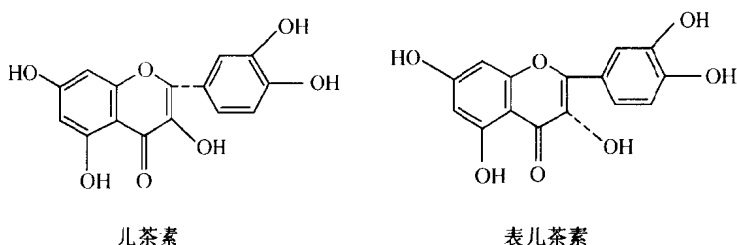


图 1-3 儿茶素分子结构图

### 1.1.2 银杏黄酮类化合物的理化性质

黄酮类为酚性成分，属多环多元酚类，由于含有苯并  $\gamma$ -吡酮而形成  $\beta$ -烯醇酮 ( $\beta$ -enolone) 结构，这种烯醇酮结构所表现的特性是黄酮分子中的酚羟基的弱酸性与铁盐的显色反应；还能与铝形成配合物，使光吸收长移，显较深的颜色，可用于鉴定黄酮类化合物（即铝盐比色法）；同时酚羟基具有还原性，表现在提取加工过程中的氧化变色，在提取分离时可加入还原剂进行保护。

银杏黄酮类化合物的苷元多为结晶体、苷多为无定性粉末。黄酮苷类由于在结构中引入糖基，故均有旋光性，且多为左旋。银杏黄酮、黄酮醇及其苷类分子含有 7,4'-位助色团，颜色为深黄色；在紫外光下产生荧光，可用于银杏黄酮类化合物的定性检验。

银杏黄酮类化合物的苷元一般难溶于或不溶于水，可溶于甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯、氯仿、乙醚等有机溶剂及稀碱溶液

中。银杏黄酮苷元与糖结合成苷后,水溶性相应增大,一般可溶于热水、甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯中,难溶于乙醚、石油醚、苯、氯仿等有机溶剂。银杏黄酮类化合物因分子中具有酚羟基而显弱酸性,可溶于碱性水溶液、吡啶、甲酰胺及二甲基甲酰胺等。

## 1.2 银杏萜内酯

### 1.2.1 组成和结构

银杏内酯化合物属于萜类化合物,又称为银杏萜内酯,由倍半萜内酯和二萜内酯组成,是银杏叶中一类重要的活性成分。

白果内酯(bilobalide)属倍半萜内酯,是 R. T. Major 于 1967 年和 K. Weinges 1969 年分离得到的<sup>[9]</sup>,是目前从银杏叶中发现的唯一的倍半萜内酯化合物。银杏内酯 A (GA)、银杏内酯 B (GB)、银杏内酯 C (GC)、银杏内酯 M (GM)、银杏内酯 J (GJ) (ginkgolideA、ginkgolideB、ginkgolideC、ginkgolideM、ginkgolideJ) 为二萜内酯化合物,于 1932 年由 S. Furukawa 首次从银杏叶中分离出来,1967 年才由 K. Nakanish、M. Maruyama 和 K. Okabe 等人进一步分离和确定其化学结构。

从图 1-4 结构上看,白果内酯类分子骨架由 15 个碳原子组成,具有互相稠合在一起的 4 个五元环,其中有 1 个五元碳环,3 个五元内酯碳环,五元环上连有 1 个天然产物中罕见的叔丁基。白果内酯有很强的生物活性,为神经精神病药物,对因年老的呆傻症有奇异的疗效,它能抗神经末梢的衰老,被誉为真正抗衰老化学物质。而银杏内酯类化合物的分子骨架由 20 个碳原子组成,具有 6 个五元环,其中有 2 个五元碳环,3 个五元内酯环,1 个四氢呋喃环,2 个五元碳环以螺环的形式连接在一起,

其余的环以稠合的方式连接，形成一个刚性笼状的特殊立体化学结构。银杏内酯分子中均具有天然产物中罕见的叔丁基。银杏内酯 A、银杏内酯 B、银杏内酯 C、银杏内酯 M、银杏内酯 J 结构差别在于含有的羟基数目和羟基连接的位置不同。银杏内酯均为强血小板活化因子拮抗剂，是银杏叶中特殊生理活性的关键成分。国内外对这类成分做了大量化学、药理和临床研究。作者 1989 年以来对贵州等地及不同生育期生长的银杏叶进行了分析测定，在 327 多份样品检测结果中发现银杏叶中萜内酯含量差异很大，变幅为 0.04% ~ 1.17%。0.3% 以上者占样本数的 35.2%；萜内酯组分中银杏内酯（GA + GB + GC）含量大于白果内酯（BB）含量。不同生育期间叶中萜内酯含量相差 5 ~ 10 倍，秋季（9 ~ 10 月）含量最高。

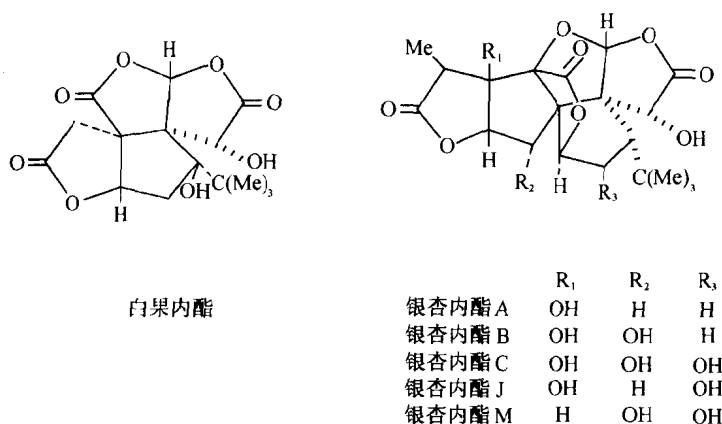


图 1-4 银杏内酯和白果内酯分子结构

### 1.2.2 银杏内酯类化合物的理化性质

银杏内酯类化合物理化常数如表 1-1 所示。

# 1 银杏叶主要化学成分的研究

表 1-1 银杏内酯类化合物理化常数

| 内酯名称   | 国际通用号   | 分子式                  | 相对分子质量 | $[\alpha]_D$ | 熔点/℃       |
|--------|---------|----------------------|--------|--------------|------------|
| 银杏内酯 A | BN52020 | $C_{20}H_{24}O_9$    | 408    | - 39         | ~ 300      |
| 银杏内酯 B | BN52021 | $C_{20}H_{24}O_{10}$ | 424    | - 63         | ~ 300      |
| 银杏内酯 C | BN52022 | $C_{20}H_{24}O_{11}$ | 440    | - 19         | ~ 300      |
| 银杏内酯 M | BN52024 | $C_{20}H_{24}O_{10}$ | 424    | - 39         | > 280 (分解) |
| 白果内酯   |         | $C_{15}H_{18}O_8$    | 326    | - 64         | > 300 (分解) |

银杏内酯类化合物为白色结晶，味苦，熔点为 300℃ 左右。其中银杏内酯 M 加热至 280℃ 分解，无明显熔点。因分子中含有羟基和多个含氧酯基，比一般的倍半萜和二萜类化合物的极性大，易溶于乙醇、丙酮、丁酮、乙酸乙酯、二甲基亚砷等有机溶剂中。

银杏内酯类化合物对浓酸和强氧化剂很稳定，用浓硝酸溶解银杏内酯类化合物后蒸发至干，其内酯仍不破坏。银杏内酯类化合物分子中含有多个内酯结构。与碱作用生成盐，可溶于水。将生成的盐用酸酸化，则生成原来的内酯而不溶于水，却溶解于有机溶剂，这一特性可用于银杏内酯的提取分离。银杏内酯类化合物分子中有  $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_{10}$  和  $C_{14}$  等 7 个手性碳原子，这些手性碳原子的构型决定了银杏内酯类化合物的刚性笼状构型及其特殊的生物活性。

## 1.3 聚异戊烯醇

聚异戊烯醇属于多烯醇类（或多萜醇类），是银杏叶中存在的一种类酯化合物。由一系列异戊烯基单元首尾相连构成的长链化合物，有顺式和反式两种。1982 年日本田中康之等从银杏叶中分离出聚异戊烯醇类化合物，其分子中异戊烯基单元数为 14~22。王成章（1992）等证明我国银杏叶也含有桦木聚异戊烯醇型聚异

戊烯醇，其分子中异戊烯基单元数为 15~21。这类化合物广泛存在于哺乳动物的肝脏、胰脏和肾脏等器官中，对维持肝功能，促进造血功能能起到重要作用，是一类值得引起重视的，具有广阔开发前景的生物活性成分。银杏叶中聚异戊烯醇类化合物结构式如图 1-5 所示。

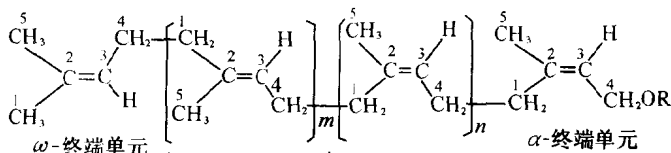


图 1-5 聚异戊烯醇的分子结构

作者近年来对银杏叶中聚异戊烯醇类化合物进行了系统分离、纯化及组分鉴定，采用石油醚浸提、硅胶柱吸附、以石油醚-氯仿-乙酸乙酯梯度洗脱，获得聚异戊烯醇产物纯度为 79.0%，得率为 0.4%~0.49%。聚异戊烯醇类化合物的异戊烯基结构单元数为 15~22。研究表明，银杏叶中聚异戊烯醇类化合物含量随产地和树龄不同相差甚大，其中以贵州省正安县银杏基地树叶（2~5 年生）中含量最高（12.1mg/g），是贵州省务川县老树叶（15 年以上）的 8 倍左右。

## 1.4 有机酸类

银杏叶中含有脂肪酸、羟基酸、莽草酸、氨基酸及 6-羟基犬尿喹啉酸（6-HKA）等。6-HKA 是广谱中枢神经氨基酸拮抗剂，它作用于 N-甲基-D-天冬氨酸（NMDA），能降低脑缺氧，是银杏叶提取物中一种重要的生物活性成分<sup>[8]</sup>，近年来已引起了国内外学者的重视，其全面的药理作用有待进一步研究。氨基酸也是银杏叶中重要的有机酸。6-HKA 分子结构见图 1-6。

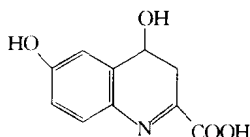


图 1-6 6-HKA 分子结构图

作者对银杏叶中氨基酸测试结果表明：银杏叶中氨基酸含量极其丰富，总氨基酸量为 10.7% ~ 15.4%（干基计），均含有 9 种必需氨基酸，氨基酸组成合理，必需氨基酸含量占总氨基酸的比值达 39.1% ~ 41.5%，必需氨基酸占非必需氨基酸比值为 66.5% ~ 70.9%。

## 1.5 酚酸、烷基酚及烷基酚酸类

银杏叶中酚酸类 (phenolic acids) 据波兰 Maria Ellnain-Wojtaszek (1997) 报道主要有 7 种，即原儿茶酸 (protocatechuic acid)、*p*-羟基苯酸 (*p*-hydroxybenzoic acid)、香草酸 (vanillic acid)、咖啡酸 (caffeic acid)、*p*-香豆酸 (*p*-coumaric acid)、阿魏酸 (ferulic acid)、绿原酸 (chlorogenic acid)。近年来，酚酸及其酯的生物活性引起了广泛的关注。其中阿魏酸、香豆酸、咖啡酸及绿原酸可促进胃液和胆汁的分泌。香豆酸、香草酸和咖啡酸有抗细菌和消炎的作用，原儿茶酸是一种抗真菌物质，绿原酸还有刺激神经中枢系统的作用。经 HPLC 法分析了银杏叶、根和种皮中的 7 种游离酚酸，其含量分别为 19.9 $\mu\text{g/g}$  鲜叶；345 $\mu\text{g/g}$  根和 2.71 $\mu\text{g/g}$  种皮中。经水解后，原儿茶酸是主要组分，含量最高达 272 $\mu\text{g/g}$  (鲜)，主要存在于叶和根中。

烷基酚及烷基酚酸属于长链苯酚类化合物，目前所说的银杏酸主要指这类化合物，其中有白果酸 (ginkgolic acid)、氢化白果酸 (hydroginkgolic acid)、银杏酚 (bilobol)、白果酚 (ginkgol)，