

利用 FTIR 研究银杏内酯 B 与水的关系

袁传勋, 潘 见, 胡学桥, 徐 靖

合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥 230069

摘 要 利用 IR 光谱法考察了不同含水率的银杏内酯 B (GB) 的光谱变化。研究表明, 不同含水率的 GB 的 IR 在 3 452, 1 793 和 1 780, 1 630 cm^{-1} 处吸收强度有所变化, 其原因是由于 GB 分子的笼蔽形状及羟基与水形成包含和氢键作用大小不同所致, 但其结构未发生变化, 与 GB 对照品的 IR 光谱一致。借助 DSC 和 LC-MS 进一步解析了 GB 与水的微妙变化, GB 是脂溶性的, 不溶于水, 但在一般情况下 GB 易吸收环境中的水分, 另一方面在特定的条件下也能脱水。

关键词 银杏内酯 B; 水; IR; DSC; LC-MS

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-0593(2007)02-0270-05

引 言

银杏内酯 (Ginkgolides) 为银杏叶的主要有效成分, 因具有高度专属性拮抗血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF), 尤其是以银杏内酯 B 活性最强, 引起国内外学者的广泛关注^[1-5]。已知银杏内酯有 6 种, 分别为 Ginkgolides A, B, C, J, M 和白果内酯, 属于二萜烯类化合物, 它们的基本结构是共同的, 不同的银杏内酯之间的差别仅在于羟基的数目与位置的不同 (见图 1)。另外还含有一个结构类似的倍半萜内酯成分白果内酯。目前国内外的研究工作主要集中在银杏内酯的提取分离、结构鉴定、药理、药效等方面^[6, 7], 但对银杏内酯的特性研究相对较少。银杏内酯的化

学性质不活泼, 且不溶于水, 但我们在精制纯化和保存的过程中发现银杏内酯中始终含有一定量的水分。为此本文利用 IR, LC-MS 和 DSC 等方法对银杏内酯与水的关系进行了研究, 以期探讨银杏内酯的干燥和保存条件及作用机理, 确保银杏内酯产品达到 类新药药典的要求。

1 实验部分

1.1 仪器及材料

仪器: 液-质联用仪 (LC-MS Agilent, Agilent1100, USA); 傅里叶红外光谱仪 (Nicolet IMPACT-400, USA); 差示扫描量热分析仪 (DSC-6200, JAPAN)。

材料: 银杏内酯 B (GB), 纯度 $\geq 98\%$, 自制; 银杏内酯 B

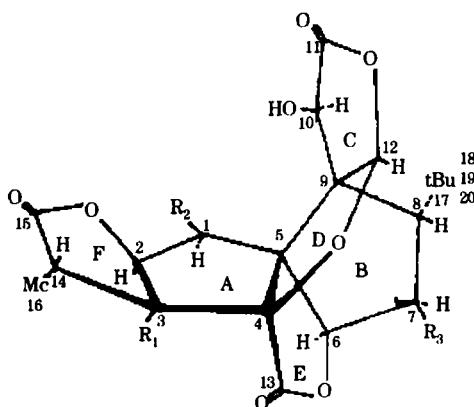


Fig 1 Chemical structure of Ginkgolide

	R ₁	R ₂	R ₃	来源
Ginkgolide A	OH	H	H	根皮叶
Ginkgolide B	OH	OH	H	根皮叶
Ginkgolide C	OH	OH	OH	根皮叶
Ginkgolide M	M	OH	OH	根皮
Ginkgolide J	OH	H	OH	叶

收稿日期: 2005-11-28, 修订日期: 2006-03-28

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (20136023) 和教育部科技创新工程重大项目培育基金项目 (7074027) 资助

作者简介: 袁传勋, 1964 年生, 安徽省文物考古研究所研究员

e-mail: ycx608@sohu.com

对照品: 购自中国药品生物制品检定所 (未开封) 110863- 无水, 得含水率为 1.29 %。

200305。 (2) GB 80 干燥, 放置 2 个月后, 90 干燥 1 h, 失重

0.53 %, 得含水率为 0.76 %。 (3) GB 80 干燥, 放置 2 个月

1.2 含水率测定

(1) GB 80 干燥, 放置 2 个月后, 105 下干燥至恒重 后, 105 下干燥至恒重无水。

Table 1 FTIR data of the Ginkgolide B

	Std. GB	GB	GB 90	GB 105
含水率/ %		1.29	0.76	0.00
ν_{OH}	3 500, 3 452 cm^{-1} , 峰强度 25 %, 二分子缔合	3 500, 3 452 cm^{-1} , 峰强度 15 %, 稍宽, 有氢键, 二分子缔合	3 500, 3 454 cm^{-1} , 峰强度 9 %, 稍宽, 有氢键, 二分子缔合	3 500, 3 452 cm^{-1} , 峰强度 34 %, 稍宽, 有氢键, 二分子缔合
ν_{CH_3}	2 972 cm^{-1}	2 972 cm^{-1}	2 972 cm^{-1}	2 972 cm^{-1}
ν_{CH_2}	2 916 cm^{-1}	2 916 cm^{-1}	2 916 cm^{-1}	2 916 cm^{-1}
ν_{CH}	2 864 cm^{-1}	2 864 cm^{-1}	2 864 cm^{-1}	2 864 cm^{-1}
$\nu_{\text{C=O}}$	1 973, 1 780 cm^{-1} , 峰强度 4 %	1 973, 1 780 cm^{-1} , 峰强度 1 %	1 973, 1 778 cm^{-1} , 峰强度 0 %	1 973, 1780 cm^{-1} , 峰强度 8 %
$\nu_{\text{C=C}}$	1 630 cm^{-1} , 峰强度 80 %	1 630 cm^{-1} , 峰强度 76 %	1 631 cm^{-1} , 峰强度 72 %	1 630 cm^{-1} , 峰强度 92 %
δ_{asCH}	1 429 cm^{-1}	1 429 cm^{-1}	1 471 cm^{-1}	1 429 cm^{-1}
δ_{sCH}	1 360 cm^{-1}	1 360 cm^{-1}	1 360 cm^{-1}	1 360 cm^{-1}
$\nu_{\text{C-O-C}}$	1 300 ~ 1 100 cm^{-1}	1 300 ~ 1 100 cm^{-1}	1 300 ~ 1 100 cm^{-1}	1 300 ~ 1 100 cm^{-1}
ν_{OH}	945 cm^{-1}	945 cm^{-1}	945 cm^{-1}	945 cm^{-1}

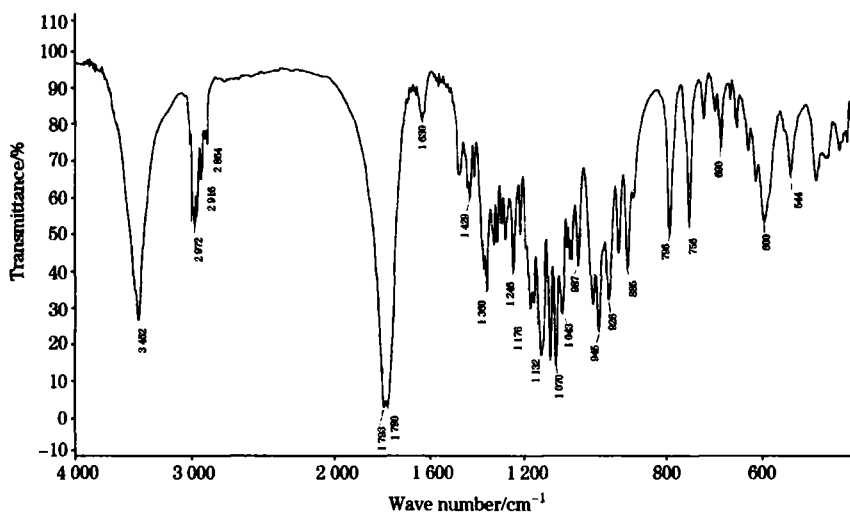


Fig 2 IR spectrum of standard Ginkgolide B

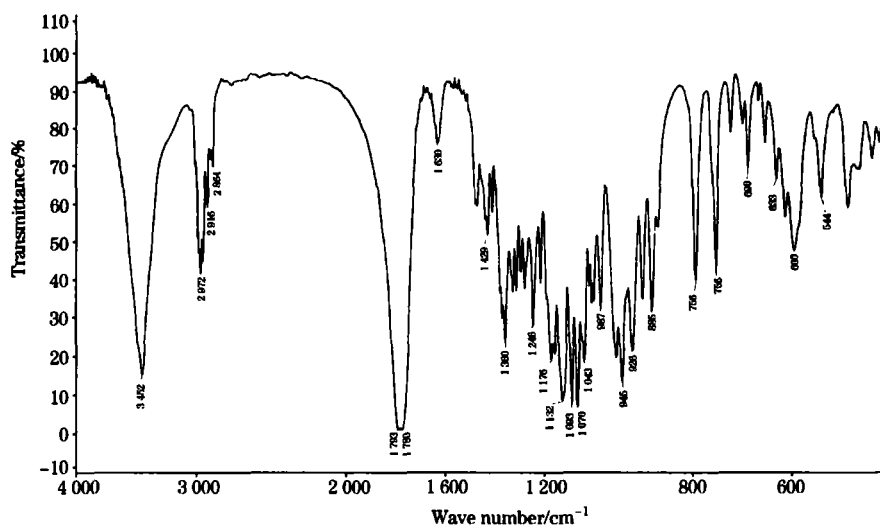


Fig 3 IR spectrum of the Ginkgolide B (water ratio : 1.29 %)

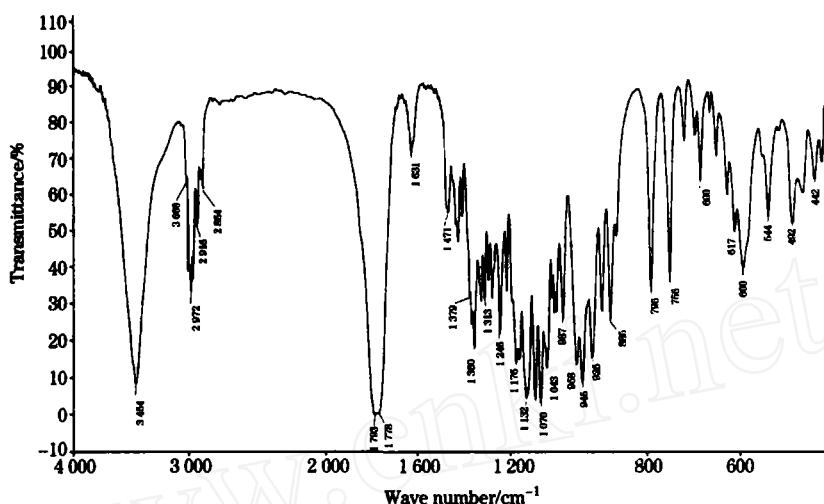


Fig 4 IR spectrum of the Ginkgolide B(water ratio : 0.76 %)

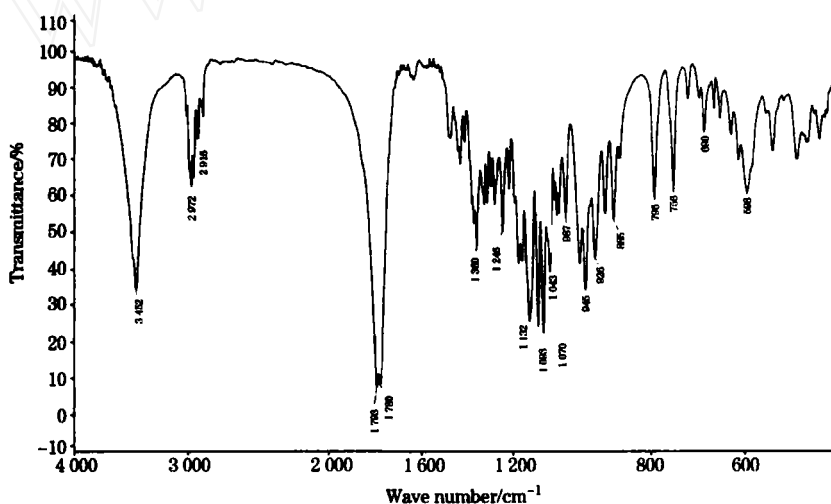


Fig 5 IR spectrum of the Ginkgolide B(water ratio : 0.00 %)

2 结果与讨论

2.1 银杏内酯结构与水的关系

银杏内酯是二萜内酯类化合物, 包括 1 个四氢呋喃环、3 个 γ -内酯环和由 2 个戊碳环连结在 1 个碳原子上形成的螺 [4, 4]壬烷系统, 共 6 个戊碳环与叔丁基、甲基结合的独特 C20 笼蔽分子。顺式耦合的五元环 F, A, D, C, 以特定方式折叠, 形成 1 个大小恰当的半球形腔 (0.4 nm 宽 $\times$ 0.5 nm 深), 该腔能接受大多数离子 (Fe^{2+} , Ca^{2+} 等) 或某些小分子化合物 (H_2O 等), 腔的两个平行边被 F 环和 C 环的 C11, C15 内酯环所限定, 四氢呋喃环占据“笼”的中心位置^[8, 9], “笼”四周的官能团主要是酯基、醚基等脂溶性基团, 使 GB 不溶于水, 同时半球形空腔内含有一定数量的羟基, 这样水分子可以方便地进入其中, 一方面是空腔的包合作用, 另一方面是羟基的氢键作用, 二者的合力作用造成银杏内酯在一般情况下含有一定的水分。另外还有一个由五元环 D, E, B 组成的扇贝形空腔, 腔的边缘由叔丁基引导使有机弱极性分

子选择性进入, 但水分子等极性分子很难进入这个空腔内。

2.2 IR 光谱考察 GB 与水的作用关系

GB 对照品和含水率分别为 1.29%, 0.76%, 0.00% 的 GB IR 谱图见图 2~图 5, 具体数据见表 1。

(1) 不同含水率的 GB 样品与 GB 对照品的 IR 光谱基本一致。四种情况下的 GB IR 光谱随着含水率的不同在 3 500 和 3 452 cm^{-1} , 1 973, 1 780 和 1 630 cm^{-1} 处的吸光度有所不同。

(2) 3 500 和 3 452 cm^{-1} 是指 GB 中羟基的伸缩振动。游离 ν_{OH} 一般在 3 633 cm^{-1} , 分子内形成氢键的 ν_{OH} 一般在 3 572 cm^{-1} , 分子间形成氢键的 ν_{OH} 一般在 3 500 cm^{-1} 。由于 OH 是个强极性基团, 缔合现象非常显著, 氢键缔合后, O—H 键拉长, 偶极矩增大, 造成红移现象。3 500 cm^{-1} 附近一方面表现多聚缔合现象为峰形较宽^[10], 另一方面又表明水与 GB 分子间的相互作用^[11], 3 452 cm^{-1} 为尖锐的吸收带, 可确定为二分子缔合而不是多分子缔合。透过率的高低与含水量有一定的关系, 即水分越高, T 值越小, 反之水分越低, T 值越大, 这说明了 GB 中不仅有二聚体的氢键作用,

也有水分子的氢键作用。

(3) $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 处出现的吸收峰,在含水量较高时,峰形较大较尖,随着含水量的降低而逐渐减少,无水时基本消失,说明此峰为自由水的吸收峰^[12]。而 $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ 也在 $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 附近,但吸收峰强度很弱,且很尖锐,由此可断定此峰的出现是由 GB 水分子引起的。

(4) $1\,793$ 和 $1\,780\text{ cm}^{-1}$ 出现肩峰,随着水含量的减少,分岔现象越来越明显,且峰的强度越来越大。分岔峰可能是由于水和温度等因素的影响造成烯醇互变形成共轭双键所致。

2.3 DSC 考察 GB 与水的作用关系

含水率为 1.29% GB 的 DSC 图谱在 100.9 有一倒峰,出现明显的失重和放热现象。说明了水与 GB 的结合是一种分子间作用,而不是化学结合。在 150 有吸收峰,出现失重和吸热现象,这可能是 GB 局部脱水所致。

2.4 LC-MS 考察 GB 与水的作用关系

在 LC-MS 中 GA, GB, GC 有二聚体 $2\text{GA} = 816$, $2\text{GB} = 848$, $2\text{GC} = 880$ 和失水离子峰 $\text{GA} - \text{H}_2\text{O} = 390$, $\text{GB} - \text{H}_2\text{O} = 406$, $\text{GC} - \text{H}_2\text{O} = 422$ 出现,这说明银杏内酯类化合物不仅能形成二聚体,而且在一定条件下能失去 1 个甚至 2 个水分子。

3 结 论

(1) 银杏内酯是脂溶性化合物,不溶于水,与水分子的作用,受银杏内酯笼蔽分子的包含和分子中羟基形成氢键的影响,造成银杏内酯类化合物在提取分离和保存过程中,易吸收环境中的水分。

(2) IR 光谱中 $\nu_{\text{OH}} 3\,452\text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C}=\text{O}} 1\,793$ 和 $1\,780$, $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 等吸收峰的强度与水的含量有一定的关系。 $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 峰随着水含量的增加而增加,从而确证该峰不是 $\nu_{\text{C}=\text{C}}$,而是水分子影响所致。

(3) DSC 和 LC-MS 显示银杏内酯在一般情况下稳定,但在特殊的条件下(如高温、电子轰击等),可局部失去分子。IR 和 LC-MS 证实了银杏内酯本身可形成二聚体和与水分子间有氢键作用。

(4) 银杏内酯的保存应密封,并加干燥剂的条件下保存,以确保银杏内酯不吸收环境中的水分。

(5) 银杏内酯中水含量的高低对其结构没有影响。

致谢: 感谢中国人民解放军总医院的陶忠华、廖杰两位教授对本研究的大力帮助,并感谢国家药物及代谢产物分析研究中心对 IR 光谱分析的支持。

参 考 文 献

- [1] Katsunori Tanaka, Kimberly D Kester, Nina Berova, et al. Tetrahedron Letters, 2005, 46: 531.
- [2] Teris A van Beek. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005, 13: 5002.
- [3] Chandrasekaran K, Mehrabian Z, Spinnewyn B, et al. Brain Res., 2001, 922: 282.
- [4] Mostafa K Mesbah, Sherief I Khalifa, Alaa El-Gandy, et al. IL Farmaco, 2005, 60: 583.
- [5] Weiliang Zhu, et al. Bioorganic & Medical Chemistry, 2005, 13: 313.
- [6] Wang Q J, Wu X F, Liu W T. J. Chin. Nat. Med., 2003, 1(4): 215.
- [7] Nakanishi K. Bioorg. Med. Chem., 2005, 13: 4990.
- [8] MacLennan K M, et al. Progress in Neurobiology, 2002, 67: 247.
- [9] Hu L, et al. Bioorg. Med. Chem., 2000, 8: 1515.
- [10] HUANG Zhong-hua, SUN Xi-ryun, LI Yan, et al (黄中华, 孙秀云, 李 燕, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 698.
- [11] MA Gang, WENG Shi-fu, WU Jir-guang (马 刚, 翁诗甫, 吴瑾光). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 1999, 19(2): 168.
- [12] YAO Ming, LIU Zi-yang, WANG Kai-xiong, et al (姚 铭, 刘子阳, 王凯雄, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(6): 870.

Study on the Relation between Ginkgolide B and Water by FTIR

YUAN Chuan-xun, PAN Jian, HU Xue-qiao, XU Jing

Engineering Research Center of Bio-Process of Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230069, China

Abstract The method of IR was used to study GB spectrum variety with different water ratio, and it was showed that GB IR spectrum only changed in the absorption strength at 3 452, 1 793, 1 780 and 1 630 cm^{-1} . The reason is that the water was concealed by GB cage skeleton and formed hydroxyl bond with GB hydroxyl groups, and the structure of GB remained unchanged and accorded with standardized GB. With the help of DSC and LC-MS, the subtle relations between GB and water were explained, GB is lipophilic and can not be dissolved by water, but in general, GB is easy to absorb the water of environment, and can be dehydrated under particular conditions.

Keywords Ginkgolide B; Water; IR; DSC; LC-MS

(Received Nov. 28, 2005; accepted Mar. 28, 2006)

《光谱学与光谱分析》对来稿英文摘要的要求

来稿英文摘要不符合下列要求者, 本刊要求作者重写, 这可能要推迟论文发表的时间。

1. 请用符合语法的英文, 要求言简意明、确切地论述文章的主要内容, 英文摘要应与中文摘要一致, 且不加评论和补充解释。

2. 应拥有与论文同等量的主要信息, 包括四个要素, 即研究目的、方法、结果、结论。其中后两个要素最重要。有时一个句子即可包含前两个要素, 例如“用某种改进的 ICP-AES 测量了鱼池水样的痕量铅”。但有些情况下, 英文摘要可包括研究工作的主要对象和范围, 以及具有情报价值的其他重要信息。在结果部分最好有定量数据, 如检测限、相对标准偏差等; 结论部分最好指出方法或结果的优点和意义。

3. 句型力求简单, 尽量采用被动式, 通常应有 10 个左右意义完整、语句顺畅的句子。英语词数以 150 至 200 个为宜, 不能太短; 也不要太长。用计算机单面隔行打印。

4. 摘要不应有引言中出现的内容, 换言之, 摘要中必须写进的内容应尽量避免在引言中出现。摘要也不要对论文内容作解释和评论, 不得简单重复题名中已有的信息; 不用非公知公用的符号和术语; 不用引文, 除非该论文证实或否定了他人已发表的论文。缩略语、略称、代号, 除相邻专业的读者也能清楚地理解外, 在首次出现时必须加以说明, 例如用括号写出全称。