

银杏黄酮苷和萜类内酯含量的季节变化

冷平生¹, 王天华², 苏淑钗³, 蒋湘宁², 王沙生²

(1. 北京农学院园林系, 北京 102206; 2. 北京林业大学生物中心, 国家林业局树木花卉育种生物工程重点实验室, 北京 100083;
3. 北京林业大学森林资源与环境学院, 北京 100083)

摘要: 以银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 2 年生实生苗和大树为试材, 分析根、茎和叶中银杏黄酮苷及萜类内酯含量的季节变化规律。银杏叶中萜类内酯含量从春季起逐渐增加, 至夏末秋初达最高值, 随后逐渐减少; 根和茎中萜类内酯含量的季节变化与叶中相类似, 但在冬季休眠期维持较高含量, 进入春季伴随叶的萌发生长降低到全年的最低点。银杏茎中萜类内酯含量最低, 相当于叶含量的 1/3 和根含量的 1/2。叶中白果内酯含量在总萜类内酯中所占比例较高, 而在根和茎中所占比例则较低。随着树龄增加, 银杏叶萜类内酯含量下降, 这可能与萜类内酯合成能力下降有关。银杏黄酮苷含量在春季幼叶中最高, 夏季和秋季相对较低且变化不明显; 长枝叶中槲皮素较多, 而短枝叶中山柰黄素较多。对不同季节和不同部位的不同成分含量的相关机理进行了讨论。

关键词: 黄酮苷; 萜类内酯; 季节变化; 银杏

中图分类号: S664.3; Q946.83; Q541 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2001)03-0015-04

Seasonal changes of flavonol glycosides and terpene lactone contents of *Ginkgo biloba* L. LENG Ping-sheng¹, WANG Tian-hua², SU Shu-chai³, JIANG Xiang-ning², WANG Sha-sheng² (1. Department of Landscape Architecture, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China; 2. Experimental Centre of Forest Biology, The Laboratory of Tree & Ornamental Plant Breeding and Biotechnology of National Forestry Administration, Beijing 100083, China; 3. College of Forest Resource and Environment, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(3): 15-18

Abstract: Flavonol glycosides and terpene lactone contents in leaves, stem and root of *Ginkgo biloba* L. 2-yr-old seedling as well as adult tree were determined in relation to the seasonal changes. Terpene lactone content of leaves increased gradually in spring with a maximum in late summer and early fall, thereafter decreased; terpene lactone of root and stem appeared similarity changes as leaves but maintained high content in dormancy stage in winter, then declined to the lowest when sprout in spring. Terpene lactone content of stem were the lowest, corresponding to 1/3 of leaves and 1/2 of root while bilobalide in leaves had a high ratio of total terpene lactone. Terpene lactone content decreased with tree age increment, which may be related to its biosynthetic activity decreasing. Flavonol glycosides content appeared higher in young leaves in spring, quercetin was major aglycone in leaves of long shoot, and kaempferol in leaves of short shoot. The relative mechanisms of different components in different seasons and plant parts were discussed briefly.

Key words: flavonol glycosides; terpene lactone; seasonal changes; *Ginkgo biloba* L.

近年叶用银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 的栽培在我国迅速发展, 一些地区将银杏开发作为重点产业。据统计, 我国银杏叶资源占全球的 70%, 1997 年我国银杏叶提取物 (EGB) 生产厂家约 60 余家, 产量达 100 t, 80% 销往国外。叶用银杏栽培的目的主要是提取银杏黄酮与银杏萜类内酯物质, 因此, 了解其生物合成与积累的变化规律, 对叶用银杏的定向栽培技术体系的建立是十分有益的。近年国内外对银杏大树叶黄酮苷含量的季节变化^[1-3], 银杏实生苗、嫁接苗、雌树和雄树叶萜类内酯含量的变化^[4,5]等进行

了一些研究, 但主要由于银杏黄酮苷与萜类内酯分析方法及试验材料的不同, 所报道的数据存在较大差异^[6], 此外银杏黄酮苷与萜类内酯含多种组分, 不同组分的变化规律也可能不一致, 而关于银杏根与茎中萜类内酯含量变化规律尚不清楚, 因此, 开展银杏黄酮苷和萜类内酯季节变化规律的研究, 对于了解银杏黄酮苷与萜类内酯的生物合成与积累有重要

收稿日期: 2000-11-03

作者简介: 冷平生(1964-), 男, 江西修水人, 博士, 副教授, 主要从事栽培生理学与植物化学研究。

意义。

1 材料与方法

1.1 材料

于 1998 年 3~12 月,每月取 10 株 2 年生银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 容器苗,清水洗去土块,分为叶、茎和根三部分,同期在北京农学院校园内选定 35~40 年生银杏树采叶样。幼树采集的根、茎、叶和大树采集的叶样置于烘箱中 70℃ 烘干,粉碎过 20 目筛,待分析银杏黄酮苷和萜类内酯含量。

1998 年 9 月在北京农学院院内银杏大树枝条上分不同枝位采叶样:在长枝上取顶端幼叶,顶端往下第 2~5 片成熟叶(一般第 5 片叶后叶节间开始缩短)及基部老叶;在短枝上取外围第 1~3 片叶即小叶,从外往内第 3~5 片叶即大叶。长枝采集的幼叶、成熟叶和老叶,以及短枝上采集的大叶和小叶分别贮存并烘干粉碎过筛,待分析银杏黄酮苷和萜类内酯含量。

1.2 分析方法

银杏黄酮苷:HPLC 法测定^[1,7]。

银杏萜类内酯:气相色谱法分析银杏内酯 A

(GA)、银杏内酯 B(GB)和银杏内酯 C(GC),以及白果内酯(BB)含量^[8]。

2 结果与分析

2.1 银杏叶黄酮苷含量动态变化

银杏幼苗与大树叶中黄酮苷含量季节变化规律相似(表 1)。4 月底新萌发的叶片中黄酮苷含量最高,幼苗叶中为 2.688%,大树叶中为 1.983%,5 月含量下降并较长时间保持稳定,直到秋末又略有增加;5 月后大树叶中黄酮苷含量无明显规律性变化。幼苗的黄酮苷含量比大树略高。从 3 种黄酮苷元槲皮素、山柰黄素和异鼠李素在总黄酮苷中所占的比例来看,幼苗中槲皮素所占份额最高,为 39.81%~47.62%,异鼠李素所占份额较少,一般为 20% 左右或略低;大树叶中山柰黄素所占份额较高,为 42.21%~46.20%,异鼠李素相对较少,为 22.01%~25.50%。在季节变化中,幼苗发叶期槲皮素所占份额最大,为 47.62%,异鼠李素最少,为 14.57%,而其他时间没有明显变化,在大树叶中 3 种黄酮苷元所占比例基本没有变化。

表 1 银杏幼苗与大树叶中黄酮苷含量及 3 种苷元所占百分比的季节变化

Table 1 Seasonal variation of flavonol glycosides content and the proportion of 3 aglycones in leaves of *Ginkgo biloba* seedling and tree

成分 Component	树龄 Age of tree	不同采样日期的含量 Contents in different sampling dates						
		30/4	31/5	1/7	3/8	3/9	3/10	1/11
黄酮苷 flavonol glycosides (mg/g)	幼苗 seedling ¹⁾	26.88	17.97	17.62	17.17	17.32	18.65	18.98
	大树 tree ²⁾	19.83	16.66	16.99	17.19	16.34	17.07	16.94
槲皮素 quercetin (%)	幼苗 seedling	47.62	40.78	42.02	42.34	42.17	42.26	39.81
	大树 tree	30.76	31.93	33.97	33.28	31.03	32.94	32.15
山柰黄素 kaempferol (%)	幼苗 seedling	37.82	38.41	36.89	36.64	36.96	39.30	41.93
	大树 tree	46.20	44.28	44.02	43.80	43.47	42.21	44.00
异鼠李素 isorhamnetin(%)	幼苗 seedling	14.57	20.81	21.02	21.02	20.87	18.44	18.25
	大树 tree	23.04	23.80	22.01	22.92	25.50	24.85	23.85

¹⁾ 2 年生 2-yr-old; ²⁾ 35~40 年生 35~40-yr-old

2.2 银杏根、茎和叶中萜类内酯含量动态变化

银杏根、茎和叶中萜类内酯含量动态变化见图 1。可以看出,从春季起银杏幼苗叶中总萜类内酯含量不断增加,到夏季中后期达 1 年中最高值,为 2.307 mg/g,此后逐渐减少,到落叶前降至最低,仅为 0.77 mg/g,相当最高期的 1/3。在所测定的 4 种萜类内酯中,白果内酯含量最为丰富,其含量占总萜类内

酯的 40%~70%,其次为银杏内酯 A,相当于银杏内酯 B 与银杏内酯 C 之和,银杏内酯 C 含量最少,占萜类内酯含量的 6%~16%;在 1 年当中,4 种萜类内酯所占份额有变化,但没有明显规律性。银杏大树叶中萜类内酯含量的季节变化规律与银杏幼苗一致。与幼苗比较,大树叶中的萜类内酯含量相对较低,在 7 月份以前二者相差不大,在夏季后期和秋季前中期

差异显著,一般大树叶中萜类内酯含量比幼苗叶低40%~60%。

银杏幼苗根和茎中萜类内酯含量季节变化规律相似,但与叶比较存在很大差异,根和茎中萜类内酯含量在整个春季呈下降趋势,夏季增加,到秋初达全年最高水平,此后又逐渐下降,在秋季降到最低点后又略有回升,并在整个冬季维持较高水平。与银杏

叶比较,根和茎中的白果内酯在总萜类内酯中所占比例明显偏低,其含量与银杏内酯A相近。在银杏根、茎和叶中,茎中萜类内酯含量最低,约相当于叶含量的1/3,根含量的1/2。

2.3 叶龄对银杏黄酮苷与萜类内酯含量的影响

银杏大树长枝和短枝上不同发育阶段叶片黄酮苷和萜类内酯含量见表2。5种类型的银杏叶中黄

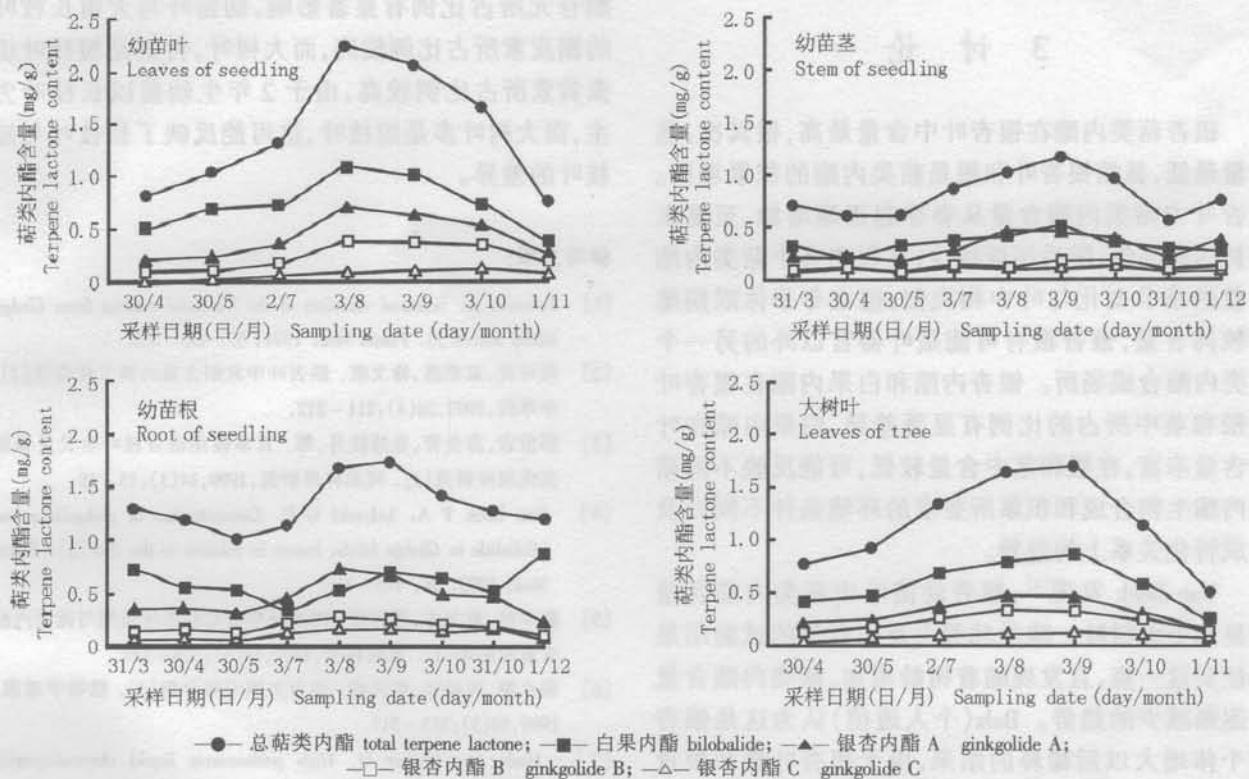


图1 银杏幼苗根、茎、叶与大树叶中萜类内酯含量的季节变化

Fig. 1 Seasonal variation of terpene lactone content in leaves, root and stem of seedling and in leaves of tree of *Ginkgo biloba* L.

表2 银杏大树长枝与短枝上不同叶片萜类内酯含量和黄酮苷含量及3种苷元所占百分比

Table 2 Terpene lactone and flavonol glycosides content and proportion of 3 aglycones in leaves of different age on long and short shoot of *Ginkgo biloba* tree

部位 Site	黄酮苷含量及3苷元所占百分比 ¹⁾				萜类内酯含量 ²⁾				
	T ₁	Q	K	I	BB	GA	GB	GC	T ₂
长枝 long shoot									
幼叶 young leaves	22.19	54.30	26.58	19.12	0.757	0.350	0.243	0.119	1.469
成熟叶 mature leaves	20.23	47.89	36.72	15.38	0.610	0.398	0.303	0.124	1.435
老叶 old leaves	22.84	54.29	26.59	19.12	0.838	0.451	0.264	0.108	1.661
短枝 short shoot									
大叶 big leaves	21.31	33.92	47.70	18.37	0.691	0.385	0.272	0.116	1.464
小叶 small leaves	20.96	33.77	47.66	18.56	0.650	0.322	0.283	0.103	1.358

¹⁾ T₁: 黄酮苷含量 flavonol glycosides content (mg/g); Q: 槲皮素 quercetin (%); K: 山柰黄素 kaempferol (%); I: 异鼠李素 isorhamnetin (%).

²⁾ BB: 白果内酯 bilobalide; GA: 银杏内酯 A ginkgolide A; GB: 银杏内酯 B ginkgolide B; GC: 银杏内酯 C ginkgolide C; T₂: 总萜类内酯含量 total terpene lactone content.

酮苷含量差异不显著,但 3 种黄酮苷元所占百分比有差异,长枝叶中槲皮素在总黄酮苷中所占比例最高,而短枝叶中山柰黄素所占比例最高,长枝和短枝叶中异鼠李素所占比例均最低。长枝上发育较早的老叶中萜类内酯含量较高,为 1.661 mg/g,其余 4 种类型叶的萜类内酯含量相对较低,且差异不显著,白果内酯和银杏内酯 A、银杏内酯 B、银杏内酯 C 在总萜类内酯中所占百分比在 5 种银杏叶中相近。

3 讨 论

银杏萜类内酯在银杏叶中含量最高,根其次,茎含量最低,显然银杏叶和根是萜类内酯的积累场所。银杏叶中萜类内酯含量从春季起逐渐增加,至夏末秋初达最高值,随后逐渐减少;在根和茎中萜类内酯含量的季节变化与叶中相类似,但在冬季休眠期维持较高含量,银杏根有可能是叶器官以外的另一个萜类内酯合成场所。银杏内酯和白果内酯在银杏叶与根和茎中所占的比例有显著差异,白果内酯在叶中含量丰富,在根和茎中含量较低,可能反映不同萜类内酯生物合成和积累所要求的环境条件不同以及合成转化关系上的差异。

Van Beek 发现^[4],银杏幼苗叶中萜类内酯含量明显高于大树叶。陈学林等^[5]及作者等的试验结果均证实这一点,且发现随着树龄增加,萜类内酯含量有逐渐减少的趋势。Balz(个人通信)认为这是银杏树个体增大以后稀释的结果,由于银杏叶量和根量与树体是同比例增加的,而树干中保留很少的萜类内酯,因此大树叶中萜类内酯含量较低有可能是另一种原因,即随银杏树发育年龄的增加其萜类内酯合成能力下降。

银杏黄酮苷的生物合成与积累可能都在叶片中完成,在春季幼叶期银杏黄酮苷含量较高,而叶片成熟后到落叶期含量相对较低,但变化不大,银杏芽中也含有较高的银杏黄酮苷^[3],因此银杏黄酮苷的生物合成和积累可能主要与叶器官的早期发育相关,

外界环境因素如光照与温度可能主要在其发育早期发挥作用,而在银杏叶成熟后影响不大。一些试验表明^[9,10],银杏双黄酮含量的季节变化较大,从春季到秋季,银杏双黄酮含量逐渐增加,在落叶中银杏双黄酮仍维持较高值,这些结果表明不同类型的银杏黄酮类物质对环境的响应是不同的。银杏大树叶与幼苗叶黄酮苷含量差异不显著,表明银杏树龄与叶龄对银杏黄酮苷的生物合成影响较小,但对不同黄酮苷元所占比例有显著影响,幼苗叶与大树长枝叶的槲皮素所占比例较高,而大树叶,特别是短枝叶山柰黄素所占比例较高,由于 2 年生幼苗以长枝叶为主,而大树叶多是短枝叶,这可能反映了长枝叶与短枝叶的差异。

参考文献:

- [1] Lobstein A. Seasonal variation of the flavonoid content from *Ginkgo biloba* leaves[J]. *Planta Med*, 1991, 57: 430~433.
- [2] 苑可武, 孟宪惠, 徐文豪. 银杏叶中黄酮含量的季节性变化[J]. 中草药, 1997, 28(4): 211~212.
- [3] 邢世岩, 苗全青, 皇浦桂月, 等. 日本核用银杏枝叶生长及黄酮变化规律研究[J]. 河北林果研究, 1999, 14(3): 15~18.
- [4] Van Beek T A, Lelyeld G P. Concentration of ginkgolides and bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves in relation to the time[J]. *Planta Med*, 1992, 58: 413~416.
- [5] 陈学林, 章文才, 邓秀新. 树龄及季节对银杏叶黄酮与萜类内酯含量的影响[J]. 果树科学, 1997, 14(4): 226~229.
- [6] 程水源, 顾曼如, 束怀瑞. 银杏文献矛盾分析[J]. 植物学通报, 1999, 16(3): 313~317.
- [7] Hasler A, Sticher O. High performance liquid chromatographic determination of five widespread flavonoid aglycones [J]. *J Chromatography*, 1990, 508: 236~240.
- [8] 冷平生, 王天华, 吴金科, 等. 银杏萜类内酯的提取和气相色谱与质谱分析[J]. 北京林业大学学报, 2000, 22(5): 19~22.
- [9] 宋永芳. 银杏化学成分与用途[J]. 林产化学与工业, 1986, 6(3): 42~45.
- [10] Pietta P, Mauri P, Rava A. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the analysis of bisflavones in *Ginkgo biloba* L. extracts[J]. *J Chromatography*, 1988, 437: 453~456.

(责任编辑:宗世贤)