

基于 UPLC 指纹图谱和黄酮醇苷含量的不同来源银杏叶的质量比较

黄 申, 朱 波, 张巧艳, 林榴芬, 尤金玲, 蒙雄裕, 张泉龙, 秦路平*

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: **目的** 比较不同产地、性别、树龄银杏 *Ginkgo biloba* 叶在同一采收期的质量, 为其资源评价提供依据。**方法** 收集 5 个产地共 36 批的银杏单株叶样品, 采用超高效液相色谱法测定芦丁、槲皮素、异鼠李素和山柰素含量。用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件处理分析, 建立银杏叶药材 UPLC 指纹图谱。结合主成分分析及偏最小二乘判别分析探讨不同性别银杏叶的质量差异。**结果** 各组样品相似度均大于 0.85, 雌株之间相似度低于雄株; 产地、性别和树龄对银杏叶的化学成分组成和比例有一定的影响, 成熟植株指纹图谱相似度变化幅度大于苗期植株; HM 居群与其它居群样品的物候期不同。**结论** 不同产地雌雄株银杏叶的性状特征存在差异。LT 居群银杏叶质量较佳且更稳定; 苗期植株稳定性高于成熟植株; 不同性别银杏叶质量差异标志物有所差异。为控制银杏叶内在质量建立了 UPLC 指纹图谱快速检测方法, 并进行指纹图谱相似度评价, 结合主成分分析及偏最小二乘判别分析方法用于分析不同性别银杏叶的质量, 为银杏叶的质量比较和资源评价提供了科学依据。

关键词: 银杏叶; UPLC 指纹图谱; 黄酮醇苷; 质量差异; 芦丁; 槲皮素; 异鼠李素; 山柰素

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)13-4125-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.13.026

Quality comparison of *Ginkgo biloba* leaves from different sources based on UPLC fingerprint and flavonoid glycosides content

HUANG Shen, ZHU Bo, ZHANG Qiao-yan, LIN Liu-fen, YOU Jin-ling, MENG Xiong-yu, ZHANG Quan-long, QIN Lu-ping

School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: **Objective** To compare the quality of Yinxingye (*Ginkgo biloba* leaves) from different producing areas, sexes, and tree ages in the same harvest period to provide the basis for resource evaluation. **Methods** The samples of *G. biloba* from five areas were investigated and collected, and the contents of rutin, quercetin, isorhamnetin and kaempferol were determined by ultra-high performance liquid chromatography (UPLC). The UPLC fingerprint of *G. biloba* was established by using the software of similarity evaluation system of chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine of National Pharmacopoeia Committee. The quality differences of *G. biloba* leaves of different sexes were discussed by principal component analysis and partial least square discriminant analysis. **Results** The similarity of samples in each group was greater than 0.85, and the similarity between female plants was lower than that between male plants. The origin, sex, and tree age had certain effects on the chemical composition and proportion of *G. biloba* leaves, and the similarity of fingerprint of mature plants was larger than that of seedling plants. Phenophase differences between HM population was different from other populations. **Conclusion** There are differences in the characters and characteristics of *G. biloba* leaves of male and female plants from different areas. The quality of *G. biloba* leaves in LT population is better and more stable. The stability of seedling plants is higher than mature plants. Besides, the quality differential markers of *G. biloba* leaves of different sexes are different. In this paper, UPLC fingerprint rapid detection method was established, and fingerprint similarity evaluation was carried out. Principal component analysis and partial least squares discriminant analysis were used to analyze the quality of *G. biloba* leaves with different genders, which provided a scientific basis for the quality comparison and resource evaluation of *G. biloba* leaves.

Key words: *Ginkgo biloba* leaves; UPLC fingerprint; flavonoid glycoside; quality differences; rutin; quercetin; isorhamnetin; kaempferol

收稿日期: 2021-12-06

基金项目: 浙江省重点研发项目 (2021C04029)

作者简介: 黄 申 (1995—), 女, 博士研究生, 研究方向为中药品质评价及资源开发利用。Tel: 17326085210

E-mail: 202011014011079@zcmu.edu.cn

*通信作者: 秦路平 (1966—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药品质评价和资源开发利用研究。

Tel: (0571)61768167 E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

银杏叶为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶, 具的化浊降脂、活血化瘀、敛肺平喘、通络止痛等功效, 主治中风偏瘫、胸痹心痛、瘀血阻络、肺虚咳喘、高脂血症^[1]。现代药理学研究表明, 银杏叶提取物具有抗脑缺血、抗炎等作用, 能够改善心脑血管循环、保护肝脏、舒张动脉、抗炎、抗过敏^[2-3]。银杏叶主要活性成分包括黄酮类、萜类内酯等。其中银杏黄酮具有扩张血管、抑制血小板活化因子、抗氧化、调血脂等药理作用, 可用于治疗心脑血管疾病、肾病综合征、糖尿病、血管性痴呆等, 对心脑血管和神经系统具有保护作用, 应用前景广阔^[4-7]。银杏叶中黄酮类成分复杂, 各成分含有量和极性差异大, 故其质量控制具有一定困难。目前, 针对黄酮类成分的分析方法, 通常是针对水解后形成的苷元, 间接地反映原型苷。《中国药典》该药材的含量测定项下对总黄酮醇的规定, 亦是通过水解后苷元槲皮素、异鼠李素和山柰素的含量为指标, 通过转换系数计算得出。而实际生产过程中无法有效监控指标成分实际情况^[8-9]。指纹图谱分析可以使中药所含多种化学成分整体可视化, 在药品质量定性监控中具有优势^[10]。由于栽培方式和采收年限不同, 银杏叶中主要化学成分的结构类型和含量存在差异, 其药理作用的特点和质量一致性也存在明显的不同^[11-13]。银杏叶药材价格在市场上差异很大, 如何通过性状特征和质量差异进行快速准确区分, 对于药材的准确鉴定、合理应用和流通销售具有重要的意义。研究雌雄异株植物药材质量差异, 分析不同性别样品质量差异标志物, 深入探索性别差异及调控机制对提升雌雄异株药用植物的药效价值及实现性别调控和转变具有一定的意义。目前对银杏叶中黄酮苷含量测定分析主要采用 HPLC 技术, 利用外标法测定槲皮素、异鼠李素、山柰素含量的一种或多种, 通过转化因子, 计算出黄酮苷的含量^[14]。

银杏作为裸子植物门银杏纲唯一现存物种, 为多年生落叶大乔木, 是世界著名的“活化石”植物, 原产自中国^[15]。天目山是地球上银杏的幸存地, 将其作为典型的自然银杏居群 (TMP), 与周边村落移栽银杏居群 (TMV) 及高校园区内银杏居群 (ZAFUD) 共同作为研究对象。此外, 中国有六处“银杏之乡”最具盛名, 它们分别是江苏省邳州市、广东省南雄市、江苏省泰兴市、湖北省安陆市、山东省郯城县、浙江省湖州市长兴县宋店。其中江苏

邳州是国内最大的银杏资源地, 邳州与郯城银杏基地相连, 土地相同、种苗互发; 安陆、贵州等地银杏种苗大部分由江苏邳州引入。2010 年“邳州银杏”获批国家地理标志产品^[16]。因此选取江苏邳州 2 个典型叶用银杏栽培基地 (LT、HM) 作为研究对象。

本研究通过收集比较不同产地雌雄株银杏叶的性状特征, 建立 UPLC 指纹图谱快速检测技术, 其色谱峰的保留时间全部在 18 min 内, 极大地提高了分析效率。测定分析总黄酮醇苷含量差异, 并以样品生成的共有模式作为对照图谱进行指纹图谱相似度评价, 结合主成分分析及偏最小二乘判别分析, 综合比较不同供试样品质量差异, 以期对不同产地雌雄株银杏叶的鉴别及应用提供参考资料。

1 材料和试剂

1.1 材料

GPS 定位仪, 卷尺, Waters ACQUITY H-Class 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), 配置四元高压泵、PDA 检测器; KQ-500B 型超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); FA22C4B 电子天平 (上海天关天平仪器有限公司); MILLI-Q 型超纯水仪 (法国密理博公司), 高速冷冻离心机 (赛默飞世尔科技有限公司)。

1.2 试剂

乙腈为色谱纯 (华东医药股份有限公司器材化剂分公司, 德国 Merck 公司); 甲酸为色谱纯 (杭州悦耳科技有限公司, 美国, aladdin 公司); 对照品槲皮素 (批号 C01J10Y91727)、异鼠李素 (批号 P14O11L124051)、山柰素 (批号 Y14M11H109733)、芦丁 (批号 Y24F11Y17051), 均购自上海源叶生物科技有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$ 。

1.3 样品的采集

选择银杏叶主要栽培地区共计 5 个居群, 每个居群采集雌雄单株各 5 株及以上 (不足 5 株则按最大量采集), 居群间隔大于 50 km, 植株间距 20 m。胸径大于 20 cm 的大树认为成年个体, 成年个体具有性别分化特征, 否则认定为苗期植株, 无两性特征。样品来源信息见表 1, 均于 2020 年 9 月采收, 采集后统一洗净, 低温烘干。所有样品均经浙江中医药大学药学院秦路平教授鉴定为银杏科植物银杏 *G. biloba* L. 的完整叶。

2 方法

2.1 色谱条件

ACQUITY UPLC BEHC₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm,

表 1 银杏叶样品采集信息

Table 1 Collection information of *G. biloba* leaves collected from Zhejiang and Jiangsu provinces

编号	采集号	性别	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m	编号	采集号	性别	经度 (E)	纬度 (N)	海拔/m
S1	LT-M1	M	117°99'	34°63'	24	S19	HM-F3	F	118°05'	34°44'	18
S2	LT-M2	M	117°99'	34°63'	24	S20	HM-F4	F	118°05'	34°44'	18
S3	LT-M3	M	117°99'	34°63'	24	S21	TMP-F1	F	119°25'	30°02'	1176
S4	HM-M1	M	118°05'	34°44'	18	S22	TMP-F2	F	119°25'	30°02'	1176
S5	HM-M2	M	118°05'	34°44'	18	S23	TMP-F3	F	119°25'	30°02'	1176
S6	HM-M3	M	118°05'	34°44'	18	S24	TMP-F4	F	119°25'	30°02'	1176
S7	TMP-M1	M	119°25'	30°02'	1176	S25	TMV-F1	F	119°27'	30°17'	340
S8	TMV-M1	M	119°27'	30°17'	340	S26	TMV-F2	F	119°27'	30°17'	340
S9	TMV-M2	M	119°27'	30°17'	340	S27	ZAFUD-F1	F	119°73'	30°25'	31
S10	TMV-M3	M	119°27'	30°17'	340	S28	ZAFUD-F2	F	119°73'	30°25'	31
S11	TMV-M4	M	119°27'	30°17'	340	S29	ZAFUD-F3	F	119°73'	30°25'	31
S12	LT-F1	F	117°99'	34°63'	24	S30	ZAFUD-F4	F	119°73'	30°25'	31
S13	LT-F2	F	117°99'	34°63'	24	S31	ZAFUD-F5	F	119°73'	30°25'	31
S14	LT-F3	F	117°99'	34°63'	24	S32	LT-S1	NA	117°99'	34°63'	24
S15	LT-F4	F	117°99'	34°63'	24	S33	LT-S2	NA	117°99'	34°63'	24
S16	LT-F5	F	117°99'	34°63'	24	S34	LT-S3	NA	117°99'	34°63'	24
S17	HM-F1	F	118°05'	34°44'	18	S35	ZAFUD-S1	NA	119°73'	30°25'	31
S18	HM-F2	F	118°05'	34°44'	18	S36	ZAFUD-S2	NA	119°73'	30°25'	31

M-雄株 F-雌株 NA-无两性特征

M-male F-female NA-no gender characteristics

1.7 μm) 色谱柱和 ACQUITYBEHC₁₈ (5 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm) MVANGUARD 预柱[沃特世科技(上海)有限公司]。流动相乙腈(A)-0.1%甲酸水(B), 梯度洗脱(0~6 min, 15%~23% A; 6~11.0 min, 23%~35% A; 11~11.1 min, 35%~41% A; 11.1~14 min, 41% A; 14~14.1 min, 41%~51% A; 14.1~18 min, 51% A); 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 检测器: PDA; 检测波长 360 nm; 体积流量 0.25 mL/min; 进样体积 3 μL , 平衡时间 30 min。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定对照品适量, 加甲醇制成含槲皮素、山柰素、异鼠李素、芦丁均为 0.1 mg/mL 的混合对照品溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

精密称定银杏叶干燥粉末 1 g, 加入甲醇 10 mL, 超声溶解, 冷却至室温, 用甲醇定容到 10 mL, 滤过, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取同一供试品(S1)溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录指纹图谱。用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版软件进行相似度分析, 以芦丁峰为参照, 多点校正后全峰匹配, 结果表明, 6 个供试品色谱图与其共有模式的相似度分别为 0.957、0.994、0.993、

0.996、0.995、0.995, 说明该方法精密度较好。

2.4.2 稳定性试验 取同一供试品(S1)溶液, 分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样, 按上述色谱条件记录指纹图谱。用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版软件进行相似度分析, 以芦丁峰为参照, 多点校正后全峰匹配, 计算结果表明, 6 个供试品色谱图与其共有模式的相似度分别为 0.992、0.989、0.992、0.994、0.992、0.993, 表明该溶液在 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取同一供试品, 照“2.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 记录指纹图谱。用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版软件进行相似度分析, 以芦丁峰为参照, 多点校正后全峰匹配, 计算结果表明, 6 个供试品色谱图与其共有模式的相似度分别为 0.998、0.999、0.999、0.999、0.998、0.993, 说明该方法重复性较好。

2.5 样品测定

将供试品溶液按“2.1”项下色谱条件进样测定, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版软件, 多点校正后全峰匹配, 计算相似度。依《中国药典》2020 年版规定方法分别测定槲皮素、山柰素和异鼠李素的含量, 并按下式换算成总黄酮醇苷的含量。

总黄酮醇苷含量=(槲皮素含量+山柰素含量+异鼠李素含量) $\times$ 2.51

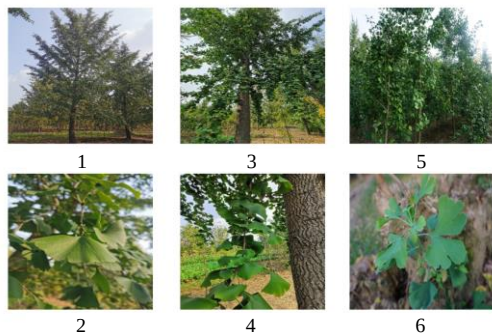
2.6 数据处理及统计分析

采用 Microsoft Office 2020 软件和 SPSS (26.0) 对数据结果进行整理汇总和方差分析, 中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版软件进行相似度分析, SIMCA-P 13.0 软件进行主成分分析 (principal component analysis, PCA), GraphPad Prism 7.00 软件进行图表绘制。

3 结果与分析

3.1 雌雄异株银杏叶性状特征的比较分析

在实际工作中一般应用如下方法初步区分银杏雌雄植株: 雌株主枝在主干上着生角度大, 向四面展开, 有时下垂; 雄株主枝在主干上着生角度小、挺直向上。雌株叶裂较少、较浅, 不达叶之中部; 雄株叶裂较深、缺刻超过叶的中部^[17]。现代银杏有长、短枝之分, 短枝上的叶是短柄、簇生的; 银杏叶由枝端的幼叶开始向下发育过程呈规律性变化。银杏叶裂片由窄变宽, 向着利于光合作用的方向发展^[18]。见图 1。由于不同产地银杏实生植株及叶片形态存在一定差异, 为精准鉴别植株性别, 采集样品前均与种植养护或专业人员进行性别确认。



1、2-成熟雄株 3、4-成熟雌株 5、6-苗期植株
1, 2-male plants 3, 4-female plants 5, 6-seedling plants

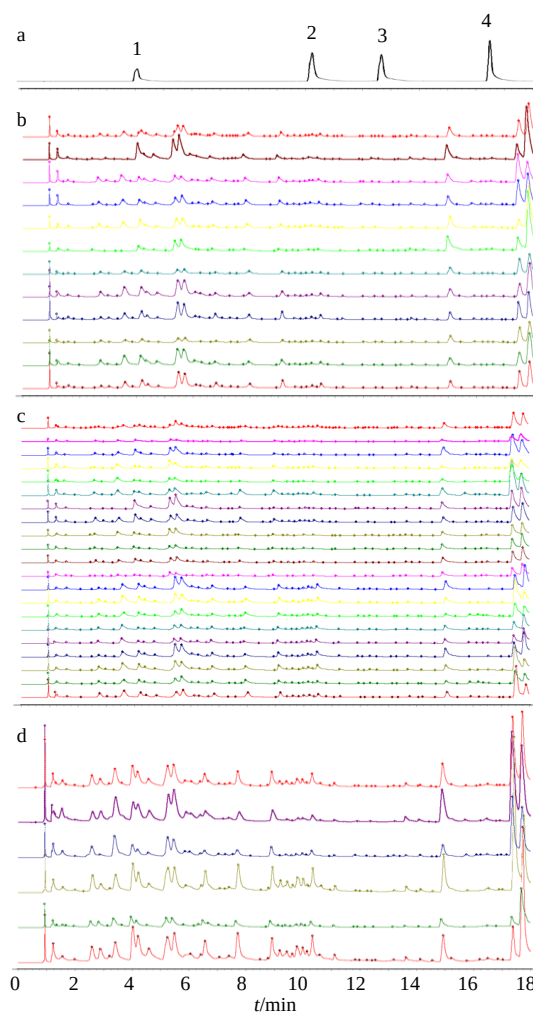
图 1 银杏样本图

Fig. 1 Sample pictures of *G. biloba*

3.2 指纹图谱分析及含量测定结果

在优化的色谱条件下, 对 5 个居群 36 份银杏叶样品进行 UPLC 指纹图谱分析。将采集的数据按植株性别分类, 导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版软件, 经数据剪切、等长处理、数据平移, 计算生成对照指纹图谱 (RFP)。图 2 为对照品色谱峰图, 相似度评价结果见表 2。

由表 2 可知, 5 个居群 11 份雄株银杏叶片样品相似度在 0.879~0.966; 20 份雌株银杏叶片样品相



1-芦丁 2-槲皮素 3-异鼠李素 4-山柰素
1-rutin 2-quercetin 3-isorhamnetin 4-kaempferol

图 2 混合对照品溶液 (a)、雄株叶提取液 (b)、雌株叶提取液 (c)、苗期叶提取液 (d) UPLC 图

Fig. 2 UPLC chromatograms of reference solution (a), male *G. biloba* leaves extract (b), female *G. biloba* leaves extract (c), *G. biloba* seedling leaves extract (d)

表 2 银杏叶样品指纹图谱相似度测定结果

Table 2 Fingerprint similarity in *G. biloba* leaves

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.900	S13	0.905	S25	0.891
S2	0.928	S14	0.908	S26	0.892
S3	0.957	S15	0.927	S27	0.907
S4	0.894	S16	0.896	S28	0.871
S5	0.931	S17	0.895	S29	0.887
S6	0.958	S18	0.905	S30	0.930
S7	0.908	S19	0.915	S31	0.922
S8	0.966	S20	0.928	S32	0.935
S9	0.942	S21	0.917	S33	0.917
S10	0.879	S22	0.922	S34	0.949
S11	0.879	S23	0.921	S35	0.976
S12	0.865	S24	0.910	S36	0.978

似度在 0.865~0.930;5 份苗期银杏叶片样品相似度在 0.917~0.978。样品指纹图谱相似度变化范围较大,与文献一致^[11]。各组样品相似度均大于 0.85,雌株之间相似度低于雄株,成熟植株相似度变化幅度大于苗期植株。性别和树龄对银杏叶的化学成分组成和比例有一定的影响;2~5 年生银杏叶的化学成分组成和比例较一致,质量稳定。

对各供试品中芦丁、槲皮素、异鼠李素和山柰

素含量进行测定,计算总黄酮醇苷含量,结果见表 3。供试银杏叶片样品总黄酮醇苷含量变幅为 0.11~1.86 mg/g,平均含量为 0.43 mg/g。雄株银杏叶片样品总黄酮醇苷含量变幅为 0.21~1.86 mg/g,平均含量为 0.55 mg/g。雌株银杏叶片样品总黄酮醇苷含量变幅为 0.11~0.93 mg/g,平均含量为 0.39 mg/g。雄株银杏叶片中黄酮苷含量高于雌株,与文献结论一致^[19]。

表 3 银杏叶样品总黄酮醇苷含量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Determination of total flavonol glucoside ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	总黄酮醇苷/(mg·g ⁻¹)	编号	总黄酮醇苷/(mg·g ⁻¹)	编号	总黄酮醇苷/(mg·g ⁻¹)
S1	0.29±0.00	S13	0.55±0.04	S25	0.18±0.00
S2	0.23±0.01	S14	0.57±0.00	S26	0.38±0.01
S3	0.27±0.01	S15	0.59±0.01	S27	0.38±0.00
S4	1.86±0.01	S16	0.46±0.02	S28	0.31±0.02
S5	0.92±0.03	S17	0.45±0.00	S29	0.32±0.01
S6	0.63±0.02	S18	0.63±0.02	S30	0.18±0.01
S7	0.29±0.02	S19	0.93±0.01	S31	0.11±0.00
S8	0.54±0.03	S20	0.38±0.00	S32	0.56±0.04
S9	0.38±0.01	S21	0.21±0.00	S33	0.26±0.00
S10	0.21±0.01	S22	0.18±0.01	S34	0.61±0.01
S11	0.43±0.02	S23	0.35±0.00	S35	0.13±0.00
S12	0.33±0.02	S24	0.34±0.02	S36	0.23±0.01

3.3 PCA

PCA 是从多个数值变量之间的相互关系入手,利用降维的思想,将多个变量化为少数几个互不相关的综合变量的统计方法。记分图是带有二维记分图的观察图,显示了数据中可能存在的异常值、组、相似性和其他模式。将 36 批次银杏叶样品测得黄酮醇苷类成分原始数据导入 SIMCA-P 13.0 软件,进行 PCA,确定不同样品之间的差异,结果见图 3。

5 个居群雌雄样品不能明显分开,各组间差异较小,HM 居群样品 S4 与其他样品差异显著,与“3.2”项下结果一致。全部样品采集在一周之内完成,样品采集时该居群植株已处于落叶阶段,认为

该居群与其他居群的物候期存在差异。

3.4 PLS-DA

PLS-DA 负荷权重散点图显示了 X 变量和 Y 变量之间的关系 VIP (variable importance for the projection) 图汇总了变量对解释 X 和与 Y 相关的重要性,通常选 VIP>1 的变量为特征变量。为具体分析雌雄株银杏黄酮苷含量差异性,本研究对雌株、雄株和未进行性别分化的苗期银杏叶样品进行 PLS-DA 比较分析(图 4~6),首先对雄株样品进行有监督模式的识别分析,结果显示雌雄株银杏叶中总黄酮醇苷、槲皮素、异鼠李素 VIP 值均大于 1;山柰素存在差异,雄株中山柰素可作为质量差异标志物,雌株中山柰素 VIP 值小于 1,不能作为质量差异标志物。雄株样品中 LT 居群样品与 TMP 居群样品差异较小;HM 居群样品存在异常离群。雌株样品居群间差异较小,且存在异常离群值 S19,为 HM 居群样品。与主成分分析结果一致。苗期质量差异标志物包括山柰素和槲皮素;ZAFUD 居群样品组内差异较小,苗期样品均无异常离群。

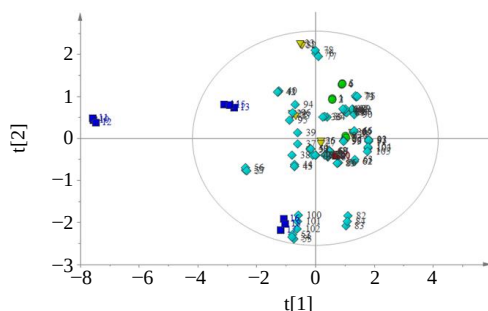


图 3 PCA 分析得分图

Fig. 3 Principal component analysis score chart of all samples

4 讨论

有研究表明,雌雄异株药用植物在生理生化以

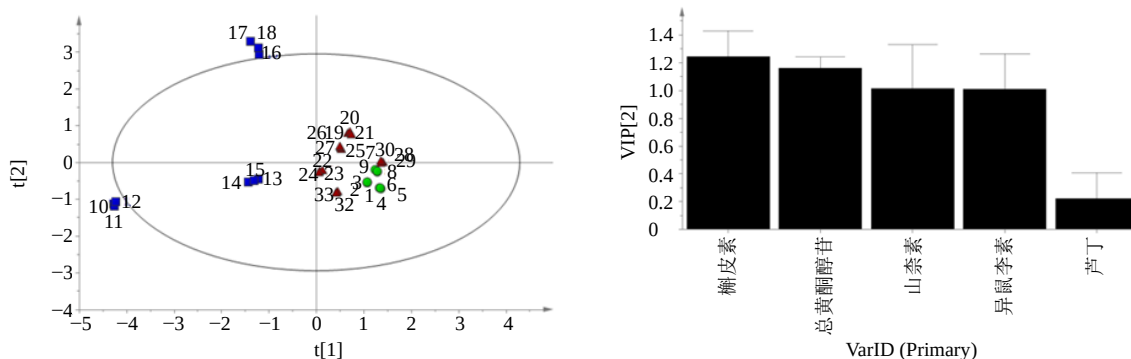


图 4 雄株样品 PLS-DA 分析得分图及 VIP 图

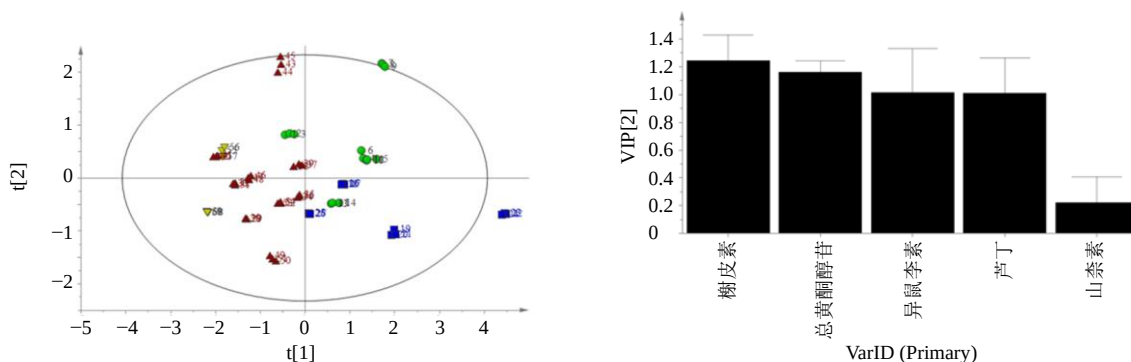
Fig. 4 Partial least squares discriminant analysis score map and VIP value map of male *G. biloba* samples

图 5 雌株样品 PLS-DA 分析得分图及 VIP 图

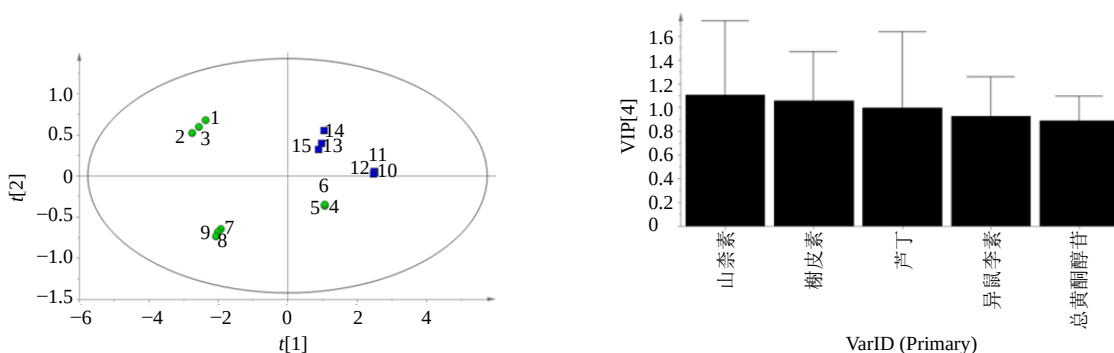
Fig. 5 Partial least squares discriminant analysis score map and VIP value map of female *G. biloba* samples

图 6 苗期样品 PLS-DA 分析得分图及 VIP 图

Fig. 6 Partial least squares discriminant analysis score map and VIP value map of *G. biloba* samples at seedling stage

及某些活性成分的含量上有显著差异^[20]。也有研究表明一些雌雄异株药用植物某些次生代谢产物的含量与性别无明显关系^[21]。银杏雌雄株叶片的生理差异较大。与雄株相比，雌株抗盐胁迫能力强^[22]。由本研究结果可知，不同地区栽培技术及采收时间对银杏叶性状特征有一定的影响。已有文献中对银杏叶植株性别的表观性状鉴别仅可作为参考依据，并不能完全保证鉴定结果的可靠性，还需结合资料记载和分子生物学手段进行进一步分析。

本研究通过对银杏叶道地产区进行实地深入考察，以典型样品为质量评价对象，通过数据化分析进一步明确了道地产区银杏叶药材和野生银杏叶以及观赏用银杏叶质量的差异，采用 UPLC 技术建立了银杏叶药材中 4 种主要黄酮苷类成分的含量测定方法，以外标法精确定量，准确真实地揭示银杏叶药材中黄酮苷类成分的内在质量。建立了以指纹图谱相似度评价结合 PCA 及 PLS-DA 的银杏叶药材质量评价方法，为银杏叶的药材生产和快速鉴定及其

质量控制提供参考。

银杏产业相关公司主要经营银杏种苗收购及供应, 银杏树价格从上万元降至千元, 持续走低; 银杏叶单价从几十元降至一元, 低廉的收成价格严重打击了银杏种植户的栽培积极性。科学评价银杏药材质量, 发展银杏系列产品, 提高银杏市场价值, 对于促进产学研的有机结合具有重要意义。

志谢: 浙江中医药大学中医药科学院医学科研中心公共平台提供技术协助。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 329-330.
- [2] Goh L M, Barlow P J, Yong C S. Examination of antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf infusions [J]. *Food Chem*, 2003, 82(2): 275-282.
- [3] 丁东, 张展鹏, 权美平. 银杏叶提取物的化学成分、生物活性及应用研究进展 [J]. *江苏调味副食品*, 2015, 32(3): 5-8.
- [4] Gagné B, Gélina S, Bureau G, et al. Effects of estradiol, phytoestrogens, and *Ginkgo biloba* extracts against 1-methyl-4-phenyl-pyridine-induced oxidative stress [J]. *Endocrine*, 2003, 21(1): 89-95.
- [5] Horáková L, Licht A, Sandig G, et al. Standardized extracts of flavonoids increase the viability of PC12 cells treated with hydrogen peroxide: Effects on oxidative injury [J]. *Arch Toxicol*, 2003, 77(1): 22-29.
- [6] Kubota Y, Tanaka N, Umegaki K, et al. *Ginkgo biloba* extract-induced relaxation of rat aorta is associated with increase in endothelial intracellular calcium level [J]. *Life Sci*, 2001, 69(20): 2327-2336.
- [7] van Beek T A, Montoro P. Chemical analysis and quality control of *Ginkgo biloba* leaves, extracts, and phytopharmaceuticals [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2002-2032.
- [8] 刘国雄, 李华, 张军. UPLC 指纹图谱快速评价银杏叶提取物及制剂的质量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(1): 64-68.
- [9] 刘建庄. 银杏黄酮类化合物的 NMR 指纹图谱分析及定量研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2004.
- [10] 王德伟, 朱红, 高尔. 银杏黄酮的药理作用和临床应用 [J]. *食品与药品*, 2006, 8(6): 7-9.
- [11] 鞠建明, 段金彪, 钱大玮, 等. 不同树龄邳州银杏叶在不同采收期指纹图谱比较 [J]. *中草药*, 2005, 36(9): 1388-1391.
- [12] 周昊, 王成章. 银杏资源加工利用产业发展现状 [J]. *生物质化学工程*, 2021, 55(1): 10-14.
- [13] 刘小允. 邳州市银杏产业发展新思路 [J]. *安徽农学通报*, 2020, 26(24): 99-101.
- [14] 杨伟丽, 马媛媛. 甘肃不同产地及不同季节银杏叶中总黄酮苷的含量测定 [J]. *甘肃医药*, 2013, 32(3): 169-171.
- [15] 殷平平. 基于基因组重测序的银杏种群进化历史研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [16] 张卫东. 中医药“五种资源”视角下的邳州银杏 [J]. *产业与科技论坛*, 2021, 20(4): 42-44.
- [17] 王建国, 韩小英, 景丽, 等. 银川市银杏树雌雄同株形态特征调查研究 [J]. *宁夏农林科技*, 2011, 52(12): 89.
- [18] 周兴文. 银杏 (*Ginkgo biloba*) 叶的形态发育与演化 [J]. *沈阳大学学报*, 2006, 18(4): 83-86.
- [19] 范怡梅, 王勇, 谭仁祥, 等. 银杏叶黄酮甙含量与生长季节和植株性别的相关性研究 [J]. *中国中药杂志*, 1998, 23(5): 267-269.
- [20] 刘海萍, 巢志茂, 谭志高, 等. 雌雄异株药用植物的物质基础分析及其研究技术 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(4): 104-107.
- [21] 叶东旭, 李钦, 杜红岩, 等. 杜仲雌雄株叶高效液相色谱指纹图谱和次生代谢产物的含量比较 [J]. *时珍国医国药*, 2014, 25(5): 1077-1079.
- [22] 蒋雪梅, 胡进耀, 戚文华, 等. 银杏幼苗雌雄株对盐胁迫响应的差别 [J]. *云南植物研究*, 2009, 31(5): 447-453.

[责任编辑 时圣明]