

银杏叶聚戊烯醇亚急性毒理学研究

王成章^{1,2*}, 原姣姣¹, 叶建中¹, 李文君¹, 张红玉¹¹ 中国林业科学研究院林产化学工业研究所 生物质化学利用国家工程实验室; 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 南京 210042; ² 中国林业科学研究院林业新技术研究所, 北京 100091

摘要: 本文研究了银杏叶聚戊烯醇(GBP)的亚急性毒理实验, 为 GBP 开发为保健食品或医药品提供基础。使用 80 只 SD 大鼠, 雌雄各半, GBP 药物随机分为 417、833 mg/kg 和 1250 mg/kg 三个剂量组(相当于推荐剂量的 50、100 和 150 倍)和阴性对照组, 将 GBP 掺入基础饲料中连续喂养 30 d 后, 作血常规和生化指标测定, 同时取出肝、肾、脾、睾丸称重, 并对肝、肾、脾、胃肠、睾丸、卵巢作组织病理学检查。结果表明, GBP 各剂量组给予大鼠喂养 30 d, 动物活性和生长正常; 各剂量组体重、30 d 食物利用率、脏器比与对照组比较无显著性差异($P > 0.05$); 对雌雄大鼠红细胞计数(RBC)、白细胞计数(WBC)、血红蛋白(HGB)、白细胞计数分类中嗜中性粒细胞(NE)、淋巴细胞(LY)、单核细胞(MO)、嗜酸性粒细胞(EO)、嗜碱性粒细胞(BA)等血常规指标没有影响($P > 0.05$), 对血清中天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、尿素(BUN)、肌酐、胆固醇、甘油三脂、血糖、白蛋白及总蛋白等各项生化指标没有产生明显差异($P > 0.05$), 对受检脏器作组织病理学检查未见特异性病变。大鼠连续喂养 30 d 摄入 1250 mg/kg 剂量的 GBP, 未见该受试物明显的毒理效应, 对机体未见不良影响。因此, 可认为 GBP 服用安全, 无毒副作用。

关键词: 银杏叶聚戊烯醇; 亚急性毒性; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.04.016

Evaluation of Subacute Toxicity of Polyprenols from *Ginkgo biloba* L.

WANG Cheng-zhang^{1,2*}, YUAN Jiao-jiao¹, YE Jian-zhong¹, LI Wen-jun¹, ZHANG Hong-yu¹

¹ Institute of Chemical Industry of Forestry Products, CAF; Nation Engineering Laboratory for Biomass Chemical Utilization; Key and Open Laboratory on Forest Chemical Engineering, SFA; Key Laboratory of Biomass Energy and Material, Nanjing, China; ² Institute of New Technology of Forest, CAF, Beijing, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the subacute toxicity of polyprenols from *G. biloba* L. (GBP). 80 rats (female and male, each half) were randomly divided into 4 different groups, including GBP 417, 833 mg/kg, and 1250 mg/kg (equivalent to 50, 100 and 150 times of the recommended dose) groups and negative control group. When rats were continuously feeding in 30 days with GBP mixed into basal diet, routine test and biochemical indexes of blood were determined. The quantity of liver, kidney, spleen and testis were weighed, and histopathological examination were performed on liver, kidney, spleen, stomach, ovary and testis. During the period of 30 d's feeding, the results showed that all rats performed normal at the end of the experiment, and the difference between different groups on the body weight, increasing weight, food intake, food utilization rate and organ/body weight ratio of rats were not statistically significant ($P > 0.05$). The difference of routine indexes of RBC, WBC, HGB, NE, LY, MO, EO, BA as well as biochemical indexes of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, urea, creatinine, blood glucose, total cholesterol, triglyceride, albumin and total protein, were also not statistically significant ($P > 0.05$). Histopathological examination showed no specific lesions for organs. No apparent toxicity and no adverse effects to rats were observed by feeding 1250 mg/kg of GBP for continuous 30 d. Therefore, GBP can be considered safe and nontoxic.

Key words: polyprenols from *G. biloba* L.; subacute toxicity; rat

在我国银杏一直是药食两用植物, 具有悠久的

历史。元代饮食太医忽思慧的《饮膳正要》, 清代温病学家王士维的《随息居饮食谱》, 集所有食疗著作之大成, 详细介绍了银杏与其他药物、谷物合理搭配, 以更好的发挥对人体的补益作用。当代更有食

疗专家胡珍珠、窦国祥等,应用营养学和医药原理,给食疗以科学的阐释和分析。目前,保留在各种医著和流传在民间的食疗方剂,不计其数。银杏在古代已被列为皇家贡品,其果实白果也备受青睐,现日本人每日有食用的习惯,西方圣诞节也必备白果。其科学研究在德国和法国影响很大,银杏药食保健功能将日益受到重视。

银杏叶具有多方面重要的药理作用和经济价值,使其开发利用成为当今的一个热点。研究表明^[14],银杏叶主要的生物活性成分有黄酮类、萜内酯、聚戊烯醇和多糖化合物。但目前我国银杏叶产品的开发仍处于初始阶段,主要利用银杏黄酮和萜内酯活性成分,最有开发价值的聚戊烯醇(polyprenols from *G. biloba* L.)未有很多利用。

研究表明^[5]:银杏叶聚戊烯醇是由一系列异戊烯基单元和终端异戊烯醇单元组成的类脂化合物,由 14-24 个异戊烯基单元构成的桦木聚戊烯醇(betulaprenol),其中 cis (α)为不饱和异戊醇,与人体及哺乳动物脏器中所含的多萜醇(Dolichols)结构

接近(图 1)。

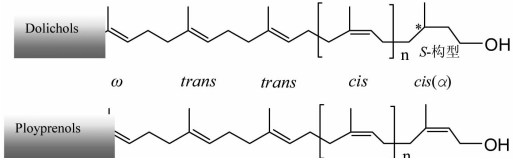


图 1 人体内多萜醇和银杏叶聚戊烯醇的化学结构图 ($n = 12 \sim 18$)

Fig. 1 Chemical structure of dolichols and polyprenols of *G. biloba* ($n = 12-18$)

人体多萜醇广泛存在于肝,脾,肾,胰,甲状腺等器官中,其含量仅为脏器湿重的 0. 01% ~ 0. 03%^[6]。多萜醇(DH)和聚戊烯醇是各种生物膜结构的中性脂质,对其功能有明显的影响^[7]。人体通过膳食摄入植物聚戊烯醇,其在人体和哺乳动物体内经生物代谢生成多萜醇,通过 CTP 酶转化为多萜醇磷酸酯,形成多萜醇磷酸酯的生物循环,参与生物细胞膜糖蛋白的合成,是糖蛋白生物代谢的关键产物(图 2)^[8-10]。

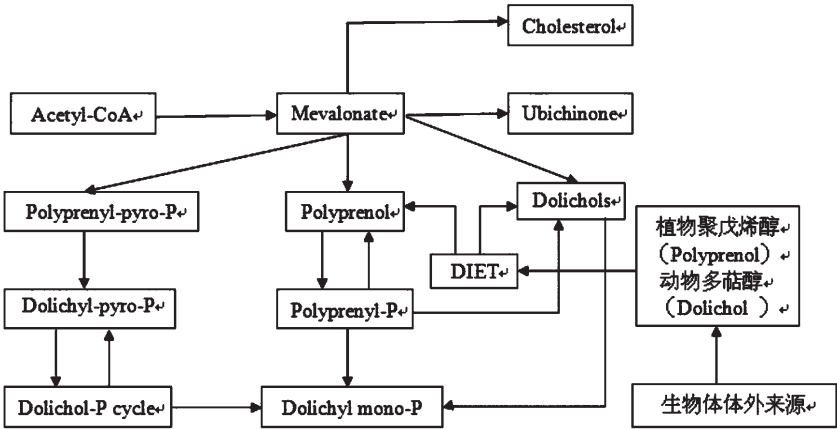


图 2 多萜醇和植物聚戊烯醇在体内生物代谢过程

Fig. 2 Biological metabolism of dolichols and polyprenols of *G. biloba* L. in vivo

国际上主要利用松树针叶提取分离得到聚戊烯醇。1997 年拉脱维亚共和国国家环境健康中心确定针叶聚戊烯醇“ROPREN”产品的质量和安全性,认为其符合拉脱维亚共和国部长会议 No. 170 关于“食品添加剂使用方法”安全性要求规定,并批准“ROPREN”可用于食品。2008 年澳大利亚 Solagran 公司以针叶聚戊烯醇为原料,开发第一个用于肝疾病治疗的聚戊烯醇新药 BIOACTIVER,在临床上可治疗早期 Alzheimer(老年痴呆症)和其它脑部疾病。我们通过对对比针叶聚戊烯醇和银杏叶聚戊烯醇化学

结构及含量^[11,12],结果表明两者结构相似,均为桦木醇结构,并且异戊烯基单元数接近,且在银杏叶中的含量最高,约为 1. 0% ~ 2. 0%,是人体脏器中多萜醇含量的 100 倍。研究表明:具有抗肿瘤、促进肿瘤细胞凋亡、辅助放疗、保护肝损伤、抗病毒,免疫调节以及抑菌等生物活性^[13-17]。目前国外研究只报道了针叶聚戊烯醇毒理学评价,国内对银杏叶聚戊烯醇毒理学评价研究很少。吕中明等^[18]报道了银杏叶聚戊烯醇的亚慢性毒性研究,采用银杏叶聚戊烯醇软胶囊剂型(聚戊烯醇含量为 4%),有 833、

1667 和 2500 mg/kg 3 个剂量组和 1 个对照,将银杏叶聚戊烯醇软胶囊内容物 2500 mg/kg 剂量混入基础饲料中喂饲大鼠 90 d,实际银杏叶聚戊烯醇剂量为 100 mg/kg;郭剑平等^[19,20]初步研究了低聚壳聚糖与银杏叶聚戊烯醇配伍毒性及对辐射损伤小鼠微核率及 p53、Gadd45 蛋白表达的影响,以银杏叶聚戊烯醇与低聚壳聚糖的复方制剂[配伍药物的无毒反应剂量(NOAEL)为 2400 mg/kg 低聚壳聚糖和 40 mg/kg 银杏叶聚戊烯醇剂量]连续灌胃 30 d,但没有评价银杏叶聚戊烯醇原料单独的食用安全性。本研究将银杏叶聚戊烯醇药物随机分为 417、833 mg/kg 和 1250 mg/kg 三个剂量组(相当于推荐剂量的 50、100 和 150 倍),远大于目前报道的给药剂量,研究银杏叶聚戊烯醇连续喂养 30 d 的亚急性毒理,为银杏叶聚戊烯醇的功能食品和药品开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 受试样品和化学试剂

银杏叶(*Ginkgo biloba* L)由中国林业科学研究院林产化学工业研究所王成章研究员鉴定。本论文的实验对象为银杏叶中有效成分聚戊烯醇(GBP),橙黄色透明油状物,实验室自制。生化试剂盒由中生北控生物科技有限公司提供;血细胞分析仪稀释液和清洗液由上海东湖生物医学有限公司提供;实验中所用其它试剂均为分析纯。

1.2 动物

4 周龄健康 SD 大鼠,雌雄各 40 只。上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,SPF 级,合格证号:SCXK(沪)2003-0003 号。实验动物环境设施合格证号:SCXK(沪)2002-0004。灭菌鼠饲料和无菌水自由食用。雌雄大鼠进室适应 4 d,选取体重为 75~95 g 的动物按性别和体重随机分入各组,每组 10 只,均单笼饲养。

1.3 GBP 剂量级选择与给药方式

GBP 设计日推荐剂量为 500 mg/人/天,即 8.33

mg/kg. b. w. ;GBP 设 0(基础饲料对照)、417、833 和 1250 mg/kg. b. w. /d.(相当于推荐剂量的 50、100、150 倍)各 4 个剂量组,分别称取 GBP 样品 0、417、833、1250 mg 拌入基础饲料到 100 g,以每日 100 mg/kg. b. w. 的摄食量给予大鼠自由食用。连续给样 30 d,自由进食、水,每周称量一次大鼠体质量,连续喂养 30 d。

1.4 一般观察

每天观察大小便,进食及活动等情况两次,视纳食情况调整喂食量,每周称 1 次体重和 2 次食物摄入量,计算每周及总的食物利用率。

1.5 标本采取

喂养结束时,取血,进行人体检查,取脏器称重、固定、保存。

1.6 测定指标

生长发育,食物利用率,血红蛋白、积血小板、红细胞、白细胞总数及分类,肝、肾、脾、睾丸体比,丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总蛋白、白蛋白、血糖、尿素氮、肌酐、总胆固醇、甘油三酯、大体解剖和肝、肾、脾、胃、小肠、睾丸、卵巢组织切片病理学检查。

1.7 统计方法

各项测定指标,远均以单因素方差分析统计结果,使用 SPSS 软件。

2 结果与分析

2.1 GBP 对大鼠生长发育的影响

在 30 d 喂养试验中,通过观察,GBP 各剂量组与对照组比较,大鼠大小便,进食及活动等未见异常。GBP 各剂量组雌雄大鼠在始重、7、14、21 d 和 30 d 等多个观察点的体重与对照组值相比,均无显著性差异($P>0.05$),表明银杏叶聚戊烯醇对大鼠生长发育无明显影响。见表 1。

表 1 GBP 对大鼠体重的影响($x\pm s$)
Table 1 Effect of GBP on body weight of rat ($x\pm s$)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	始重 Initial body weight(g)	7 d (g)	14 d (g)	21 d (g)	30 d (g)
雌 Female	0	10	82±3	130±6	164±10	191±13	209±18
	417	10	82±3	130±5	165±10	191±11	212±16
	833	10	81±3	127±7	163±8	190±11	211±13

	1250	10	82 ± 2	130 ± 7	160 ± 11	186 ± 15	209 ± 15
雄 Male	0	10	84 ± 7	143 ± 11	203 ± 10	262 ± 13	315 ± 13
	417	10	84 ± 6	145 ± 6	205 ± 10	262 ± 16	313 ± 18
	833	10	85 ± 5	146 ± 6	206 ± 6	263 ± 6	321 ± 16
	1250	10	84 ± 3	145 ± 6	203 ± 8	260 ± 15	315 ± 14

2.2 GBP 对大鼠食物利用率的影响

在 30 d 喂养试验中, GBP 各剂量组雌雄大鼠每周进食量明显增加, 对照组雌鼠从第一周进食 96 g 到最后一周进食 154 g, 总进食量达到 468 g; 对照组雄鼠从第一周进食 127 g 到最后一周进食 225 g, 总进食量达到 648 g, 雌雄大鼠对照组差异明显 ($P < 0.05$), 但是, 相同雌雄大鼠组, GBP 经药剂量组与对照组比较, 每周进食量和总进食量均无显著性差异 ($P > 0.05$), 如表 2。大鼠食物利用率在 30 d

喂养试验每周明显减少, 对照组雌鼠第一周进食利用率 49.8%, 最后一周进食利用率 12.6%, 总食物利用率 27.1%; 对照组雄鼠第一周进食利用率 46.0%, 最后一周进食利用率 25.3%, 总食物利用率 35.5%, 雌雄大鼠对照组在最后一周进食利用率和总食物利用率产生明显差异 ($P < 0.05$), 但 GBP 各药剂量组与对照组比较, 相同雌雄大鼠组没有产生明显差异 ($P > 0.05$), 如表 3。因此, GBP 对大鼠食物利用率没有产生明显的影响。

表 2 GBP 对大鼠每周进食量及总进食量的影响 (x ± s)
Table 2 Effect of GBP on food intake of rats (x ± s)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	1 ~ 7 d (g)	8 ~ 14 d (g)	15 ~ 21 d (g)	22 ~ 30 d (g)	总进食量 Total food intake(g)
雌 Female	0	10	96 ± 5	104 ± 6	115 ± 5	154 ± 16	468 ± 16
	417	10	97 ± 3	101 ± 7	113 ± 6	158 ± 6	469 ± 13
	833	10	97 ± 4	103 ± 5	114 ± 5	154 ± 8	469 ± 15
	1250	10	99 ± 4	103 ± 5	114 ± 5	158 ± 15	474 ± 9
雄 Male	0	10	127 ± 4	130 ± 5	166 ± 6	225 ± 4	648 ± 8
	417	10	129 ± 2	129 ± 7	168 ± 4	226 ± 13	651 ± 8
	833	10	126 ± 4	128 ± 12	169 ± 7	225 ± 6	648 ± 17
	1250	10	126 ± 3	129 ± 11	167 ± 5	227 ± 4	650 ± 11

表 3 GBP 对大鼠食物利用率的影响 (x ± s)
Table 3 Effect of GBP on food utilization rate of rats (x ± s)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	1 ~ 7 d (%)	8 ~ 14 d (%)	15 ~ 21 d (%)	22 ~ 30 d (%)	总食物利用率 Total food utilization rate(%)
雌 Female	0	10	49.8 ± 6.2	33.0 ± 4.9	23.7 ± 4.1	12.6 ± 3.6	27.1 ± 3.6
	417	10	48.9 ± 4.4	35.4 ± 9.2	23.0 ± 4.6	14.2 ± 5.9	27.7 ± 3.4
	833	10	47.8 ± 5.7	34.1 ± 5.2	24.1 ± 6.7	14.7 ± 3.2	27.8 ± 2.9
	1250	10	48.7 ± 6.5	30.1 ± 7.6	22.6 ± 5.0	15.7 ± 4.5	27.0 ± 2.9
雄 Male	0	10	46.0 ± 6.2	46.7 ± 5.9	35.0 ± 4.2	25.3 ± 3.3	35.5 ± 2.2
	417	10	47.0 ± 5.3	46.8 ± 4.7	34.3 ± 5.0	24.1 ± 4.9	35.1 ± 3.0
	833	10	48.2 ± 5.1	47.1 ± 9.9	34.0 ± 3.9	27.9 ± 6.0	36.4 ± 2.6
	1250	10	48.3 ± 4.2	45.3 ± 4.5	33.9 ± 8.5	25.9 ± 4.7	35.5 ± 2.4

2.3 GBP 对大鼠血常规指标影响

从表 4 可见,GBP 各剂量组雌雄大鼠的白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、血小板计数均在正常波动范围内,与雌雄大鼠对照组相比没有产生明显差异($P>0.05$)。从表 5 可

见,雌雄大鼠白细胞计数分类中嗜中性粒细胞(NE)、淋巴细胞(LY)、单核细胞(MO)、嗜酸性粒细胞(EO)、嗜碱性粒细胞(BA)等均在正常波动范围内,与雌雄大鼠对照组相比没有产生明显差异($P>0.05$),均无统计学意义。

表 4 GBP 对大鼠血常规的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 4 Effect of GBP on routine blood test of rats ($\bar{x}\pm s$)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	WBC ($10^9/L$)	RBC ($10^{12}/L$)	HGB (g/L)
雌 Female	0	10	9.1±1.7	6.8±0.5	150±8
	417	10	8.1±1.3	6.7±0.3	147±5
	833	10	8.1±1.2	6.7±0.2	150±4
	1250	10	8.5±1.4	6.7±0.5	150±10
雄 Male	0	10	9.1±2.1	6.7±0.4	147±7
	417	10	10.3±1.4	6.9±0.8	152±16
	833	10	10.8±2.7	6.8±0.4	149±6
	1250	10	9.7±1.7	6.5±0.3	145±7

表 5 GBP 对大鼠白细胞分类的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 5 Effect of GBP on white blood cells of rats ($\bar{x}\pm s$)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	NE	LY	MO	EO	BA
雌 Female	0	10	17.9±6.6	78.9±7.5	0.3±0.1	2.8±1.8	0.09±0.06
	417	10	17.1±4.1	80.3±4.6	0.3±0.1	2.2±0.9	0.08±0.06
	833	10	17.1±5.7	80.3±6.1	0.2±0.2	2.2±0.7	0.09±0.08
	1250	10	19.1±3.7	78.4±3.3	0.3±0.2	2.2±0.7	0.09±0.09
雄 Male	0	10	17.1±1.9	80.6±2.6	0.2±0.1	1.8±0.9	0.10±0.01
	417	10	19.1±3.6	78.3±4.6	0.2±0.1	1.5±0.5	0.10±0.10
	833	10	19.9±4.6	78.2±4.4	0.3±0.1	1.5±0.9	0.10±0.10
	1250	10	18.8±2.8	77.0±9.3	0.3±0.1	1.6±0.5	0.07±0.08

2.4 GBP 对血清生化指标影响

GBP 各剂量组雄性大鼠生化指标中天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)高于雌性大鼠,但雌性大鼠组中尿素(BUN)、肌酐、胆固醇和甘油三脂等生化指标高于雄性大鼠,雌雄大鼠组中血糖、白蛋白和总蛋白基本相同,与对照组相比,各剂量组雌雄大鼠血清中各项生化指标均在正常波动范围内,差异没有统计学意义($P>0.05$),见表 6。与吕中明研究结果对比^[18],GBP 对血清生化指标影响基本一致,差别在于甘油三脂指标。吕中明实验对象是银杏叶聚戊烯醇软胶囊剂型,将银杏叶聚戊烯醇软胶囊内容物 2500 mg/kg 剂量混入基

础饲料中喂饲大鼠 90 d,实际银杏叶聚戊烯醇剂量为 100 mg/kg。而本研究将银杏叶聚戊烯醇药物随机分为 417、833 mg/kg 和 1250 mg/kg 三个剂量组,连续喂养 30 d。吕中明报道 GBP 有降血脂功能,可能是由于两者提供 GBP 剂量、给药时间不同造成的,其保健功能评价有待进一步研究。

2.5 GBP 对大鼠脏器绝对重量、脏体比的影响

与对照组值比较,GBP 各剂量组对大鼠脏器绝对重量、肝体比、肾体比、脾体比等均无显著性差异($P>0.05$),说明 GBP 对大鼠内脏没有影响。见表 7 和表 8。

表 6 GBP 对大鼠部分血生化指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effect of GBP on blood biochemical indexes of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/g)	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mmol/L)	肌酐 Creatinine (μ mol/L)	胆固醇 Cholesterol (mmol/L)	甘油三脂 Triglyceride (mmol/L)	血糖 Blood glucose (mmol/L)	白蛋白 Albumin (g/L)	总蛋白 Total protein (g/L)
雌 Female	0	163 \pm 24	33 \pm 6	6.7 \pm 1.3	57 \pm 4	1.80 \pm 0.30	2.00 \pm 0.40	4.3 \pm 0.4	37 \pm 1	62 \pm 2
	417	164 \pm 14	34 \pm 7	6.3 \pm 0.7	58 \pm 3	1.85 \pm 0.36	1.85 \pm 0.64	4.6 \pm 0.5	37 \pm 1	60 \pm 1
	833	157 \pm 22	35 \pm 8	6.8 \pm 1.0	59 \pm 3	2.01 \pm 0.34	1.84 \pm 0.64	4.6 \pm 0.5	36 \pm 1	61 \pm 2
	1250	160 \pm 17	31 \pm 5	6.6 \pm 0.6	57 \pm 2	1.93 \pm 0.42	2.34 \pm 1.24	4.2 \pm 0.4	36 \pm 1	60 \pm 3
雄 Male	0	169 \pm 40	42 \pm 8	5.4 \pm 0.9	53 \pm 3	1.67 \pm 0.27	1.31 \pm 0.31	4.5 \pm 0.5	35 \pm 2	59 \pm 4
	417	174 \pm 38	41 \pm 11	5.3 \pm 0.6	53 \pm 4	1.70 \pm 0.22	1.34 \pm 0.29	5.0 \pm 0.8	36 \pm 1	60 \pm 2
	833	183 \pm 31	44 \pm 8	5.6 \pm 0.7	51 \pm 3	1.85 \pm 0.21	1.64 \pm 0.41	4.7 \pm 0.3	36 \pm 1	59 \pm 2
	1250	159 \pm 25	36 \pm 5	5.3 \pm 0.5	51 \pm 3	1.83 \pm 0.24	1.64 \pm 0.44	4.8 \pm 0.5	36 \pm 1	60 \pm 2

表 7 GBP 对大鼠脏器绝对重量的影响($\bar{g}, \bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 7 Effect of GBP on absolute weight of rats organs ($\bar{g}, \bar{x} \pm s, n = 10$)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	肝脏 Liver	肾脏 Kindey	脾脏 Spleen	睾丸 Testes
雌 Female	0	10	6.58 \pm 0.56	1.66 \pm 0.14	0.46 \pm 0.07	—
	417	10	7.14 \pm 1.00	1.65 \pm 0.20	0.49 \pm 0.07	
	833	10	6.47 \pm 0.42	1.53 \pm 0.30	0.51 \pm 0.03	
	1250	10	6.77 \pm 0.56	1.66 \pm 0.12	0.50 \pm 0.09	
雄 Male	0	10	9.57 \pm 0.65	2.62 \pm 0.19	0.74 \pm 0.11	2.92 \pm 0.23
	417	10	9.76 \pm 1.02	2.56 \pm 0.31	0.73 \pm 0.12	2.87 \pm 0.27
	833	10	9.81 \pm 0.69	2.61 \pm 0.23	0.74 \pm 0.09	2.80 \pm 0.30
	1250	10	9.86 \pm 0.59	2.57 \pm 0.20	0.68 \pm 0.13	3.01 \pm 0.26

表 8 GBP 对大鼠脏器体比的影响($\bar{\%}, \bar{x} \pm s$)

Table 8 Effect of GBP on organ/body weight ratio of rats($\bar{\%}, \bar{x} \pm s$)

性别 Gender	GBP 剂量组 GBP dosage (mg/kg)	动物数 No. of animal	肝/体 Liver/body weight	肾/体 Kindey/body weight	脾/体 Spleen/body weight	睾丸/体 Testes/body weight
雌 Female	0	10	3.15 \pm 0.15	0.80 \pm 0.04	0.22 \pm 0.02	—
	417	10	3.36 \pm 0.33	0.78 \pm 0.08	0.23 \pm 0.03	
	833	10	3.07 \pm 0.14	0.73 \pm 0.14	0.24 \pm 0.01	
	1250	10	3.24 \pm 0.23	0.80 \pm 0.07	0.24 \pm 0.03	
雄 Male	0	10	3.04 \pm 0.13	0.83 \pm 0.06	0.23 \pm 0.03	0.93 \pm 0.08
	417	10	3.11 \pm 0.19	0.83 \pm 0.07	0.23 \pm 0.03	0.92 \pm 0.09
	833	10	3.05 \pm 0.16	0.81 \pm 0.07	0.23 \pm 0.02	0.87 \pm 0.10
	1250	10	3.14 \pm 0.19	0.82 \pm 0.05	0.22 \pm 0.04	0.96 \pm 0.08

2.6 病理组织学检查

GBP 各剂量组动物大体解剖检查,肝、肾、脾、

胃、肠、胸腺、卵巢、睾丸组织切片未见与样品有关的非可逆性病理变化,组织病理学检查结果见表 9。

表 9 GBP 对大鼠组织病理学影响(只)

Table 9 Effect of GBP on histopathological examination of rats (numbers)

组织 Organs	形态改变 Morphological change	对照组 Control group		高剂量组 High-dose group	
		雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male
肝 Liver	肝细胞质内空泡 Liver cytoplasm vacuoles	1	0	0	0
	轻度充血 Mild hyperemia	2	1	2	2
	炎细胞浸润 Inflammatory cell infiltration	0	0	0	2
肾 Kindey	轻度充血 Mild hyperemia	3	0	0	1
	炎细胞浸润 Inflammatory cell infiltration	0	0	1	0
胃 Stomach	轻度充血 Mild hyperemia	0	1	0	0
	炎细胞浸润 Inflammatory cell infiltration	1	0	0	2
肠 Intestines	轻度充血 Mild hyperemia	1	1	1	0
	局部肠腺扩张	0	0	1	0
脾 Spleen	轻度瘀血 Mild billd stasis	1	0	0	2
	变性坏死 Necrosis	0	0	0	0
卵巢 Ovary	充血 Hyperemia	0	-	0	-
睾丸 Testis	生精细胞减少 Sperm cells decreases	-	0	-	0

3 讨论

聚戊烯醇是银杏叶中脂溶性有效部位,正常人体依靠每日从动植物食物中摄入聚戊烯醇和多萜醇进行正常的新陈代谢。1997 年以来,拉脱维亚林业科学研究院 BIOLAT 公司利用针叶聚戊烯醇开发商品名为 Poliprenoli 的聚戊烯醇制剂,作为食品补充剂上市销售,其剂型主要是滴丸、软胶囊等口服制剂,至今十几年没有产生不良反应的报道。国外所有针叶聚戊烯醇制剂中,口服剂每日服用聚戊烯醇 10~2000 mg/kg b. wt.,LD₅₀大于 20 g/kg;注射剂有皮下、肌肉和静脉注射,每日注射聚戊烯醇剂量为 10~1000 mg/kg b. wt.,LD₅₀大于 1 g/kg,不但药效明显,而且无任何毒副作用。

我们通过前期研究表明,银杏叶聚戊烯醇和针叶聚戊烯醇结构相似,均为桦木醇结构,并且异戊烯基单元数接近。本研究开展银杏叶聚戊烯醇亚急性毒理学评价,结果表明,以 417、833 mg/kg 和 1250 mg/kg 剂量(相当于推荐剂量的 50、100 和 150 倍)的银杏叶聚戊烯醇掺入基础饲料中喂养大鼠 30 d,动物活性和生长正常;对雌雄大鼠体重、体重增重、进食量、食物利用率及脏器比与对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),对雌雄大鼠红细胞计数(RBC)、白细胞计数(WBC)、血红蛋白(HGB)、血小板计数、白细胞计数分类中嗜中性粒细胞(NE)、淋

巴细胞(LY)、单核细胞(MO)、嗜酸性粒细胞(EO)、嗜碱性粒细胞(BA)等血常规指标没有影响,对血清中天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、尿素(BUN)、肌酐、胆固醇、甘油三脂、血糖、白蛋白及总蛋白等各项生化指标没有产生明显差异($P>0.05$),对受检脏器作组织病理学检查,未见特异性病变。因此,银杏叶聚已确认烯醇服用安全,无毒副作用,与国外针叶聚戊烯醇安全性一致,从而为银杏叶聚戊烯醇的食用和药用提供理论基础。

4 结论

大鼠连续喂养 30 d 摄入 1250 mg/kg 剂量的银杏叶聚戊烯醇,各组动物生长活动正常,未见该受试物明显的毒理,对机体未见不良影响,因此,可以认为 GBP 服用安全,无毒副作用。

参考文献

1 Chen XJ (陈西娟), Wang CZ (王成章), Ye JZ (叶建中). Research progress of chemical constituents of *Ginkgo biloba* Linn. leaves and their application. *Biomass Chem Eng* (生物质化学工程), 2008, 42(4): 57-62.

2 Van Beek TA, Scheeren HA, Rantio T, et al. Determination of ginkgolides and bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves and phytopharmaceuticals. *J Chromatogr A*, 1991, 543: 375-387.

- 3 Wang CZ (王成章), Chen X (陈祥), Tan WH (谭卫红), *et al.* Chemical constituents and analytical methods of flavonoids in the leaves of *Ginkgo biloba* L. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 1998, 18: 83-88.
- 4 Wang CZ (王成章), Tan WH (谭卫红), Chen X (陈祥). Chemical constituents and analytical methods of terpene lactones in the leaves of *Ginkgo biloba* L. *J Chem Ind Forest Prod* (林产化工通讯), 1997, 31(5): 11-14.
- 5 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦), Chen X (陈祥). Polyphenols from *Ginkgo biloba* Leaves. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 1992, 12: 279-286.
- 6 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦). Chemical synthesis and drug development of dolichol. *World Clin Drugs* (世界临床药物), 2001, 22: 350-352.
- 7 Rip JW, Rupar CA, Ravi K, *et al.* Distribution, metabolism and function of dolichol and polyphenols. *Prog Lipid Res*, 1985, 24: 269-309.
- 8 Cottalasso D, Gazzo P, Dapino D, *et al.* Effect of chronic ethanol consumption on glycosylation processes in rat liver microsomes and Golgi apparatus. *Alcohol Alcoholism*, 1996, 31: 51-59.
- 9 Chojnacki T, Dallner G. The biological role of dolichol. *Biochem J*, 1988, 251: 1-9.
- 10 Wu XH, Rush JS, Karaoglu D, *et al.* Deficiency of UDP-GlcNAc: Dolichol Phosphate N-Acetylglucosamine-1 Phosphate Transferase (DPAGT1) causes a novel congenital disorder of glycosylation type Ij. *Human Mutation*, 2003, 22: 144-150.
- 11 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦), Chen X (陈祥). Structure of polyphenols from five conifer needles. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 1994, 14(3): 1-8.
- 12 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦), Yu Q (郁青), *et al.* The content and seasonal variation of polyphenols from *Ginkgo biloba* Leaves. *J Plant Resour Environ* (植物资源与环境学报), 2000, 9(2): 57-58.
- 13 Tao R (陶冉), Wang CZ (王成章), Kong ZW (孔振武). Antimicrobial synergy between polyphenols and other lipids isolated from *Ginkgo Folium*. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19: 203-210.
- 14 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦), Gao L (高凌). The biological activities of polyphenols from *Ginkgo Biloba* L. on antitumor. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2002, 14(5): 18-20.
- 15 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦), Liu YC (刘好婵), *et al.* Study of *Ginkgo biloba* L. polyphenols on immunological function and inducing apoptosis of tumors in mouse. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业), 2005, 25(3): 9-12.
- 16 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦). The effects on transplanted Heps and EC tumors in mouse for polyphenols in combination with chemotherapeutic drug. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2003, 24: 113-115.
- 17 Wang CZ (王成章), Shen ZB (沈兆邦), Liu YC (刘好婵), *et al.* The effect of ^{60}Co radiotherapy in combination with polyphenol from *Ginkgo biloba* L. in mice transplanted Heps. *Pharm Biotech* (药物生物技术), 2004, 11: 329-331.
- 18 Lv ZM (吕中明), Xu DZ (徐德洲), Shi WQ (施伟庆), *et al.* Chronic toxicity of polyphenols from *Ginkgo biloba* L. *Mod Prevent Med* (现代预防医学), 2008, 35: 4575-4577.
- 19 Guo JP (郭剑平), Liu CH (刘春卉), Chi CP (池翠萍), *et al.* Research on toxicity of Low molecular chitosan and polyphenols from *Ginkgo biloba* L. *J Toxicol* (毒理学杂志), 2012, 26: 208-209.
- 20 Guo JP (郭剑平), Liu CH (刘春卉), Wang YL (王永利). Study of compatibility of oligo-chitosan and *Ginkgo biloba* polyphenol influences on micronuclear rates and p53, Gadd45 protein expression of radiated mice. *Radiation Protection* (辐射防护), 2012, 32: 48-52.

(上接第 632 页)

- 9 Gao EJ (高恩君), Liu Q (刘祁). Study on the synthesis, anti-cancer activity and the interaction with DNA of compounds $[\text{Pd}(\text{L})(\text{trp})]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (L = phen, 5-NO₂phen). *Acta Chim Sin* (化学学报), 2002, 60: 674-680.
- 10 Yoe JH, Joens AL. Colorimetric determination of Fe with disodium 1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonate. *Ind Eng Chem (Anal Ed)*, 1944, 16: 111-115.
- 11 Nafisi S, Saboury AA, Keramat N, *et al.* Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. *J Mole Struct*, 2007, 827: 35-43.
- 12 Eriksson M, Leijon M, Hiort C, *et al.* Binding of delta- and lambda- $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ to $[\text{d}(\text{CGCGATCGCG})_2]$ studied by NMR. *Biochemistry*, 1994, 33: 5031-5040.
- 13 Zhou QH (周庆华), Yang P (杨频). Study on the binding mode of a Cu(II) complex with DNA. *Acta Chim Sin* (化学学报), 2005, 6: 71-74.