

文章编号:1673-1689(2009)03-0301-04

## 银杏叶耐缺氧功能研究

张卫明, 徐辉, 石雪萍

(南京野生植物综合利用研究院, 江苏南京 210042)

**摘要:** 通过小鼠常压耐缺氧试验, 亚硝酸钠中毒存活和急性脑缺血缺氧试验, 对银杏叶的耐缺氧功能进行评价, 结果表明: 银杏叶可明显延长常压缺氧条件下的小鼠存活时间, 延长亚硝酸钠中毒后的小鼠存活时间, 明显延长断头小鼠的喘气时间。说明银杏叶具有显著的耐缺氧作用。

**关键词:** 银杏叶; 功能; 耐缺氧

**中图分类号:** TS 20

**文献标识码:** A

### Study on the Hypoxia Tolerance Function of the *Ginkgo biloba*

ZHANG Wei-ming, XU Hui, SHI Xue-ping

(Nanjing Institute for Comprehensive Utilization of Wild Plant, Nanjing 210042, China)

**Abstract:** In this study, the hypoxia tolerance of the *Ginkgo biloba* leaf was evaluated through the hypoxia tolerance test under normal pressures, the survival time after sodium nitrite poisoning and the acute cerebral ischemic hypoxic tolerance of the mice. The results showed that the *Ginkgo* leaf could prolong the survival time of the hypoxia tolerance mice under normal pressure and the sodium nitrite poisoning mice, it also could prolong the pant time of the mice after decapitation. All those results indicated that the *Ginkgo biloba* leaf had significant hypoxia tolerance function.

**Key words:** *Ginkgo biloba* leaf, function, hypoxia tolerance

银杏叶为银杏科银杏属植物银杏(*Ginkgo biloba*)树的叶。银杏叶性甘, 味苦、涩、平, 归心、肺经。有敛肺, 平喘, 活血化痰, 止痛之功。中医主要用于治疗肺虚咳嗽、冠心病、心绞痛、高脂血症等<sup>[1]</sup>。国内外对银杏的化学成分、药理作用已进行了广泛的研究, 已报道银杏叶银杏叶是一类天然的抗氧化剂和自由基清除剂<sup>[2-4]</sup>。我院对银杏叶食用毒理学安全性也有了全面评价的报道<sup>[5]</sup>, 作者旨在

就银杏叶的耐缺氧作用进行探讨, 从抗整体小鼠缺氧作用方面探讨银杏叶改善心脑血管的作用, 为功能性银杏茶的开发及其在心脑血管方面的临床应用提供基础实验研究依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

银杏叶: 南京野生植物综合利用研究院提供

收稿日期: 2008-06-17

基金项目: 国家科技“十一五”支撑计划重点项目(2006BAD06B09)。

作者简介: 张卫明(1957-), 男, 江苏省南京人, 研究员, 博士生导师, 主要从事植物资源保护与开发利用、农产品深加工等领域的研究与开发工作。Email: botanyzh@163.com

银杏叶样品,鉴定种为 *Ginkgo biloba*。

## 1.2 试验动物

雌性昆明种小鼠:由南京江宁青龙山动物繁殖场提供。生产许可证号:SCXK(苏)2001-0010;使用许可证号:SYXK(苏)2001-0017。

## 1.3 实验方法

**1.3.1 样品处理** 银杏叶粉状样品 20 g,常压下,在温度 80~90 °C 的蒸馏水中浸泡 50 min,每次浸泡的蒸馏水量为 400 mL,浸泡 2 次,合并浸泡液并浓缩至 300 mL 备用,用于动物灌胃。

### 1.3.2 实验动物分组

筛选出体重为 18~22 g 的雌性昆明种小鼠 120 只进行随机分组,分为 3 组分别做以下 3 个实验,用来做同一个实验的一组 40 只小鼠再进行随机分组,再分为 4 组,设正常对照组、银杏叶低剂量组、银杏叶中剂量组、银杏叶高剂量组。

**1.3.3 小鼠给药** 每个实验从开始到结束,正常对照组:蒸馏水灌胃,银杏叶低剂量组用上述浸泡浓缩液稀释 4 倍灌胃,银杏叶中剂量组用上述浸泡浓缩液稀释 2 倍灌胃,银杏叶低剂量组用上述浸泡浓缩液灌胃。灌胃体积为每公斤 2.0 mL/200 g,每日一次,动物单笼饲养,所有试验动物均食用全价颗粒饲料,自由摄食饮水。

**1.3.4 方法** 根据卫生部发布的《保健食品功能学评价程序和检验方法》和卫监发[1998]第 23 号“关于发布《保健食品功能学评价程序和检验方法》修订项目的通知”中耐缺氧作用检验方法进行耐缺氧作用试验。

#### 1) 小鼠常压耐缺氧试验:

正常对照组、银杏叶低剂量组、银杏叶中剂量组、银杏叶高剂量组四组动物连续灌胃 30 d,于末次灌胃后 1 h,将各组小鼠分别放入盛有 15 g 钠石灰的 250 mL 磨口广口瓶内(每瓶 1 只)用凡士林封瓶口,盖严,使之不漏气,立即计时,以小鼠呼吸停止为指标,观察小鼠因缺氧而死亡的时间<sup>[6-7]</sup>。

#### 2) 亚硝酸钠中毒小鼠存活试验

正常对照组、银杏叶低剂量组、银杏叶中剂量组、银杏叶高剂量组 4 组动物连续灌胃 30d,于末次灌胃后 1h,各组小鼠均腹腔注射亚硝酸钠溶液每公斤体重 200 mg/kg(0.1 mL/10 g),立即计时,记录动物存活时间<sup>[8-9]</sup>。

#### 3) 小鼠急性脑缺血性缺氧试验

正常对照组、银杏叶低剂量组、银杏叶中剂量组、银杏叶高剂量组 4 组动物连续灌胃 30 d,于末次灌胃后 1 h,各组小鼠自颈部逐只断头,立即按秒万方数据

表记录小鼠断头后至张口喘气停止时间<sup>[10-11]</sup>。

**1.3.5 数据统计处理方法** 采用 SAS 统计软件对数据进行方差分析,用 Dunnett's T 检验进行各试验组与对照组的比较<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠常压耐缺氧试验

小鼠常压耐缺氧试验结果见表 1。

表 1 银杏叶对小鼠常压耐缺氧存活时间的影响(均值±标准差)

Tab.1 Effect of hypoxia tolerance survival time under normal pressure of the mice feeding the *Ginkgo biloba* leaf (A±S)

组别	动物数/只	存活时间/min
正常对照组	10	19.7±2.5
低剂量组	10	21.5±2.5
中剂量组	10	21.8±2.9
高剂量组	10	25.1±3.0*
F 值		6.81
P 值		0.000 9

注: \* Dunnett's T 检验,与正常对照组比较有显著性差异,  $P < 0.05$

由表 1 可知,方差分析结果表明各组小鼠常压耐缺氧存活时间的均值差异有非常显著意义( $F = 6.81, P < 0.001$ )。经 Dunnett's T 检验,高剂量组小鼠常压耐缺氧存活时间与正常组比(均值±标准差)较有显著性差异( $P < 0.05$ )。说明银杏叶在每天每公斤体重 1.33 g/kg 的剂量时,具有延长小鼠常压耐缺氧存活时间的作用。

### 2.2 亚硝酸钠中毒小鼠存活试验

对各组小鼠亚硝酸钠中毒存活时间的比较见表 2。

如表 2 所示,方差分析结果表明各组小鼠亚硝酸钠中毒存活时间的均值差异有非常显著意义( $F = 6.50, P < 0.01$ )。经 Dunnett's T 检验,中剂量组和高剂量小鼠亚硝酸钠中毒存活时间与正常组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。说明银杏叶在每天每公斤 0.67g/kg、1.33g/kg 的剂量时,具有延长小鼠亚硝酸钠中毒存活时间的作用。

### 2.3 急性脑缺血性缺氧试验

银杏叶对断头处死后造成的急性脑缺血性缺氧喘气时间的影响见表 3。

表2 银杏叶对小鼠亚硝酸钠中毒存活时间的影响(均值±标准差)

Tab. 2 Effect of the survival time after sodium nitrite poisoning of the mice feeding the *Ginkgo biloba* leaf (A±S)

组别	动物数/只	存活时间/min
正常对照组	10	23.5±7.2
低剂量组	10	24.1±4.9
中剂量组	10	33.3±7.1*
高剂量组	10	34.4±9.1*
F 值		6.50
P 值		0.0013

注: \* Dunnett's T 检验,与正常对照组比较有显著性差异,  $P < 0.05$

表3 银杏叶对急性脑缺血性缺氧小鼠喘气时间的影响(均值±标准差)

Tab. 3 Effect of the pant time of the acute cerebral ischemic hypoxic mice feeding the *Ginkgo biloba* leaf (A±S)

组别	动物数/只	存活时间/min
正常对照组	10	16.2±1.1
低剂量组	10	17.4±2.3
中剂量组	10	17.5±1.4
高剂量组	10	21.6±2.3*
F 值		16.3
P 值		0.0001

注: \* Dunnett's T 检验,与正常对照组比较有显著性差异,  $P < 0.05$

对各组小鼠喘气时间进行单因素方差分析及 Dunnett's T 检验进行各试验组与对照组的比较,结果表明,银杏叶在灌胃给予小鼠每天每公斤 1.33

g/kg 的剂量时,可延长急性脑缺血性缺氧小鼠喘气时间(与正常对照比较  $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

缺氧耐受是一种应激反应,是机体多个系统功能的综合表现。此类抗整体小鼠缺氧实验是筛选治疗心脑血管组织因缺血缺氧引起功能障碍的常用方法之一。缺氧耐受检测评价指标很多,包括常压/减压条件下的存活率(时间),氰化物/亚硝酸盐中毒存活率(时间),对异丙肾上腺素导致的心肌缺氧耐受的时间,失血性休克时间,断头喘息时间,以及上述缺氧条件下的生化检测指标如耗氧量,血氧饱和度,组织 MDA 含量等。卫生部《保健食品功能学评价程序与检验方法规范》L3 中规定用常压耐缺氧实验,亚硝酸钠中毒存活实验。急性脑缺血性缺氧 3 个指标来评价缺氧耐受力。3 个实验反应的缺氧耐受机制不同,本实验研究显示银杏叶叶对小鼠心、脑、缺氧有保护作用,具有多方面的耐缺氧作用。实验表明,银杏叶能延长常压缺氧窒息及化学物质所致组织缺氧小鼠的生存时间,提示银杏叶可能具有提高机体的血氧利用率,降低机体的耗氧量,从而提高组织利用氧的能力,促进对动物心脑等重要器官的供氧需求,减少因缺氧造成的氧供能力不足所致的动物死亡。银杏叶对整体耗氧量的降低,可能是银杏叶抗缺氧作用的重要依据。本研究以实验证明银杏叶对缺氧动物有良好的保护效应,且能降低动物机体的整体及组织耗氧量,这对机体是一种有益的应激效应,此种效应可有效降低组织细胞的氧化过程。

通过以上结果可以看出,在急性缺氧状态下,银杏叶具有保护机体的作用,为银杏叶预防或降低高原反应发生率的应用提供了科学依据,但关于银杏叶的耐缺氧的确切机制还有待于进一步研究。

### 参考文献(References):

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000. 257.
- [2] 张英,吴晓琴,俞卓裕. 竹叶和银杏叶总黄酮含量及其抗自由基活性的比较研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(4):254-257.
- ZHANG Ying, WU Xiao-qin, YU Zhuo-yu. Comparison study on total flavonoid content and anti-free radical activity of theleaves of *Bamboo*, *phyllostachys nigra*, and *Ginkgo biloba*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2002, 27(4): 254-257. (in Chinese)
- [3] 徐巧玲,蔡小兵. 银杏叶提取物药理研究进展[J]. 人民军医,2004,47(10):609-611.
- XU Qiao-ling, CAI Xiao-bing. The survey of pharmacological study on the extract of *Ginkgo biloba*[J]. *People's Military Surgeon*, 2004, 47(10): 609-611. (in Chinese)
- [4] Oyama Y, Fuchs PA, Katayama N, et al. The flavonoid constituents of *Ginkgo biloba* extract, greatly reduce oxidative

- metabolism in both resting and Ca (21)-loaded brain neurons[J]. *Brain Res*, 1994, 635:125-129.
- [5] 张卫明, 顾龚平, 史劲松. 银杏叶食用安全性的毒理学评价[J]. 南京师大学报:自然科学版, 2005, 28(1): 28-30.  
ZHANG Wei-ming, GU Gong-ping, SHI Jin-song. Toxicological assessment on food reliability of *Ginkgo biloba* L. Leaves [J]. *Journal of Nanjing Normal University: Natural Science Edition*, 2005, 28(1): 28-30. (in Chinese)
- [6] 曹红, 陈思维, 王敏伟. 不同制备工艺的瓜蒌薤白提取物的药效学比较[J]. 中成药, 2001, 23(11): 814.  
CAO Hong, CHEN Si-wei, WANG Min-wei. Comparison on pharmacodynamics effects between different extracts of fructus trichosanthis and Bulbus Allii Macrostermi[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2001, 23(11): 814. (in Chinese)
- [7] 韶春利, 王世久, 王进. 瓜蒌皮抗缺氧作用研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1998, 15(1):38-40.  
SHAO Chun-li, WANG Shi-jiu, WANG Jin. Study on the antihypoxia effect of pericarp of Trichosanthis[J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 1998, 15(1):38-40. (in Chinese)
- [8] 张明发. 小檗碱的抗整体小鼠缺氧作用[J]. 中国药理学通报, 1991, 7(1):70-73.  
ZHANG Ming-fa. Study the Hydroch anti-anoxic effect on rats[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 1991, 7(1):70-73. (in Chinese)
- [9] 付守庭, 付宇. 黄芩甙的耐缺氧作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(5):207-209.  
FU Shou-ting, FU Yu. The anti-hypoxia activity of baicalin [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2001, 18(5):207-209. (in Chinese)
- [10] 戴伟娟, 辛勤, 王绍红. 苯妥英对缺氧小鼠的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(1):113-114.  
DAI Wei-juan, XIN Qin, WANG Shao-hong. Protective effect of Ligustrazine on hypoxia mice[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2001, 17(1):113-114. (in Chinese)
- [11] 张早华, 孟竞壁, 樊菊芬. 红景天对心肌缺氧、缺血保护作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(10): 617-619.  
Protective effect of rhodiola sachdlinensis on acute myocardial ischemic - anoxic injury in mice[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Westren Medicine*, 1996, 16(10): 617-619. (in Chinese)
- [12] 明道续主编. 生物统计附试验设计[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002. 67-89.

(责任编辑:杨萌)