

银杏叶提取物调节高脂血症大鼠模型血脂的有效剂量研究

许麦成, 程新梅*, 马吕丽

杭州胡庆余堂药业有限公司, 浙江 杭州 311100

摘要:目的 探索银杏叶提取物(ginkgo leaf extracts, GBE)调节高脂血症大鼠模型血脂的有效剂量。方法 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、DBE(1.2、3.8、12.0、37.9、119.8、378.7 mg/kg)组、非诺贝特(20 mg/kg)组。除对照组,其余大鼠以高脂饲料饲养 1 周建立高脂血症大鼠模型。除对照组和模型组,其余各组大鼠 ig 相应药物,1 次/d,连续 6 周。每 2 周检测大鼠血清中三酰甘油(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平。结果 给予 GBE 2、4、6 周后对大鼠调血脂的最低有效剂量分别为 37.9、12.0、3.8 mg/kg;给予 GBE(119.8、378.7 mg/kg)4、6 周后对大鼠的调血脂作用无显著差异。结论 GBE 用于短期治疗高脂血症的有效剂量为 37.9~119.8 mg/kg(相当 60 kg 成人每天用量为 377.6~1 193.3 mg),用于预防或保健作用的最低剂量为 3.8 mg/kg(相当 60 kg 成人每天用量为 37.8 mg)。

关键词:银杏叶提取物;有效剂量;高脂血症;三酰甘油;总胆固醇;低密度脂蛋白胆固醇;高密度脂蛋白胆固醇

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)02-0454-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.02.019

Study on effective dosages of ginkgo leaf extracts on regulating blood lipid of hyperlipidemia rats

XU Mai-cheng, CHENG Xin-mei, MA Lyu-li

Hangzhou Huqing Yutang Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 311100, China

Abstract: Objective To study the effective dosages of ginkgo leaf extracts (GBE) on regulating blood lipid of hyperlipidemia rats. **Methods** SD rats were randomly divided into control group, model group, GBE (1.2, 3.8, 12.0, 37.9, 119.8, 378.7 mg/kg) group and fenofibrate (20 mg/kg) group. Rats were feed with high-fat diet for one week to establish hyperlipidemia model except control group. Rats were ig administrated corresponding drugs except control and model group, once daily for six week. The levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in serum of rats were measured every two week. **Results** After being given GBE for 2, 4, 6 weeks, the minimum effective dosages of GBE for regulating blood lipid in rats were 37.9, 12.0 and 3.8 mg/kg, respectively; GBE at dosages of 119.8 mg/kg and 378.7 mg/kg had no significant difference in regulating blood lipid in rats after 4 and 6 weeks,. **Conclusion** The dosages of GBE in the short-term treatment of hyperlipidemia were 37.9—119.8 mg/kg, which was equivalent to 377.6—1 193.3 mg for 60 kg adults per day), the minimum dose for preventive or health effects was 3.8 mg/kg, which was equivalent to 37.8 mg for 60 kg adults per day).

Key words: ginkgo leaf extracts; effective dosage; hyperlipidemia; triglycerides; total cholesterol; low density lipoprotein cholesterol; high density lipoprotein cholesterol

银杏叶提取物(ginkgo leaf extracts, GBE)作为食品补充剂,在美国连续多年处于销量前 10 名,2018 年银杏叶制剂、保健食品和化妆品的全球市场总销售额超过 70 亿美元。文献报道^[1]的 GBE 临床前药效学研究剂量和临床使用剂量范围极大,GBE 调节大鼠血脂的最低剂量为 4 mg/kg,最高剂量为

5000 mg/kg。美国国立卫生研究院(NIH)数据库显示,GBE 作为膳食补充剂每人的最小剂量为 2.5 mg/d,最大剂量为 660 mg/d。我国原国家药品食品监督管理局数据库显示,GBE 作为药品的剂量为 17.5~240 mg/d,作为保健食品的剂量为 20~190 mg/d。GBE 引发的不良反应如内出血等,提示应关

收稿日期: 2020-11-16

作者简介: 许麦成,高级工程师,从事中药制剂工艺和药效学研究。Tel: (0571)86503610 E-mail: xxmmcc6505@sina.com

*通信作者: 程新梅 Tel: (0571)86503627 E-mail: 379900738@qq.com

注 GBE 临床使用的剂量和疗程, 其不良反应与剂量和疗程呈正相关^[2-5]。本研究对 GBE 调血脂作用剂量进行探索, 旨在为其临床合理使用提供依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

GBE (棕褐色粉末, 批号 GBE-202-201401003) 含总黄酮醇苷 25.57%、萜类内酯 6.62%、银杏总酸 1.24×10^{-6} , 购自浙江绍兴东灵保健食品有限公司; 非诺贝特 (批号 18862, 规格 200 mg/粒) 购自法国 Abbott Laboratories Limited 公司; 三酰甘油 (triglycerides, TG) 测定试剂盒 (批号 07010/00000210)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 测定试剂盒 (批号 07014/00000267)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 测定试剂盒 (批号 17411/00000152)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 测定试剂盒 (批号 17410/00000156), 购自德国 DiaSys Diagnostic Systems GmbH 公司; 高脂饲料 (添加 20.0%蔗糖、15.0%猪油、1.2%胆固醇、0.2%胆酸钠), 购自浙江省实验动物中心。

1.2 动物

清洁级 SD 雄性大鼠 100 只, 7 周龄, 体质量 190~240 g, 由浙江省实验动物中心提供, 动物合格证号 1609180003。动物饲养于 SPS 级动物实验室, 温度 20~26 °C, 相对湿度 40%~70%, 光照明暗交替各 12 h, 通风每小时大于 15 次, 自由摄食与饮水, 动物实验设施条件合格证号 SYXK (浙) 2013-0188。动物实验操作遵循浙江省中药研究所实验动物管理和使用规定, 符合 3R 原则。

1.3 仪器

7020 全自动生化分析仪 (日本日立株式会社); L-550 离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 剂量设定依据

GBE 临床用于调血脂的剂量中位数约为 120 mg/d, 根据 60 kg 成人质量的体表面积折算, 相当于 200 g 大鼠的剂量为 12 mg/kg。以 12 mg/kg 作为中间剂量, 以 3.16 倍级间距向下设置 2 个剂量: 3.8、1.2 mg/kg; 向上设置 3 个剂量: 37.9、119.8、378.74 mg/kg^[6]。

2.2 药物配制

称定 0.12、0.38、1.20、3.79、11.98、37.87 g GBE 粉末, 加 1000 mL 蒸馏水, 搅拌混匀, 分别配制成

质量浓度为 0.12、0.38、1.20、3.79、11.98、37.87 mg/mL 的溶液, 于 4 °C 保存。称定 2 g 非诺贝特, 溶于 1000 mL 蒸馏水, 配制成质量浓度为 2 mg/mL 的溶液, 于 4 °C 冰箱保存。

2.3 高脂血症大鼠模型的建立、分组与给药

10 只 SD 大鼠给予基础饲料作为对照组, 其余大鼠给予高脂饲料 1 周后, 眼内眦采血, 4000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 测定血清中 TC、TG 水平。剔除血清 TG < 3.0 mmol/L、TC < 2.0 mmol/L 的 10 只大鼠, 将余下大鼠按 TG、TC 水平随机分成模型组, GBE (1.2、3.8、12.0、37.9、119.8、378.7 mg/kg, 按体表面积折算相当于 60 kg 成人每天用量为 12.0、37.8、119.5、377.6、1 193.3、3 770.9 mg) 组和非诺贝特 (20 mg/kg, 相当于人用剂量的 6 倍) 组, 每组 10 只。分组后各给药组与模型组比较 TC、TG 水平均无显著性差异, 与对照组比较 TC、TG 水平有显著差异, 表明模型制备成功^[7]。

对照组大鼠给予维持饲料, 其余各组给予高脂饲料。每天上、下午, 各给药组 ig 相应药物 (5 mL/kg), 模型组与对照组 ig 等体积生理盐水, 连续 6 周, 每周测定并记录大鼠体质量。实验结束, 麻醉后脱颈椎处死。

2.4 大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平的检测

每 2 周测定 1 次大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平。给药 1 h 后, 各组大鼠眼内眦采血, 4000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 采用全自动生化分析仪测定血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平。

2.5 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件进行数据统计分析。采用方差分析 (One-way ANOVA), 方差齐时, 用 LSD 检验; 方差不齐, 用 Dunnett *t* 检验。统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 GBE 对高脂血症大鼠体质量的影响

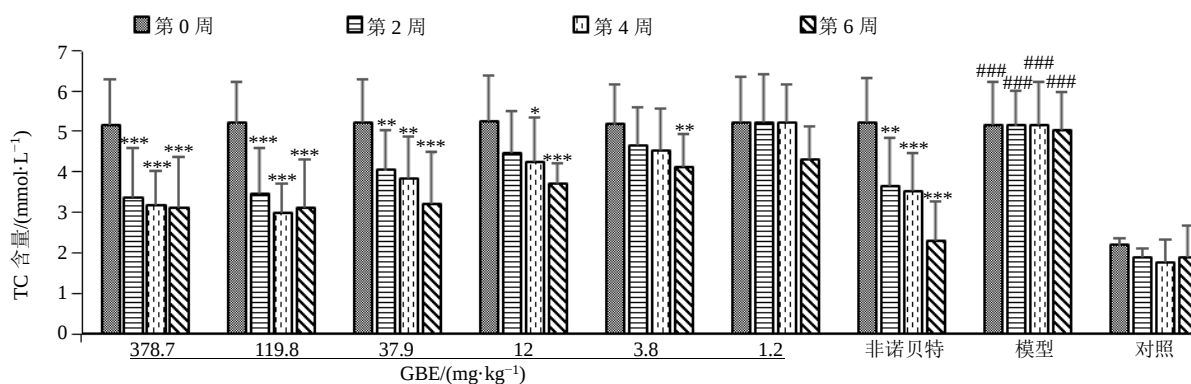
如表 1 所示, 各组大鼠体质量无显著性差异, 表明 GBE 对大鼠体质量无明显影响。

3.2 GBE 对高脂血症大鼠血清中 TG 和 TC 水平的影响

如图 1、2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清 TG、TC 水平显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 非诺贝特组第 2、4、6 周 TG、TC 水平均显

表 1 GBE 对高脂血症大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 1 Effect of GBE on body weight of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

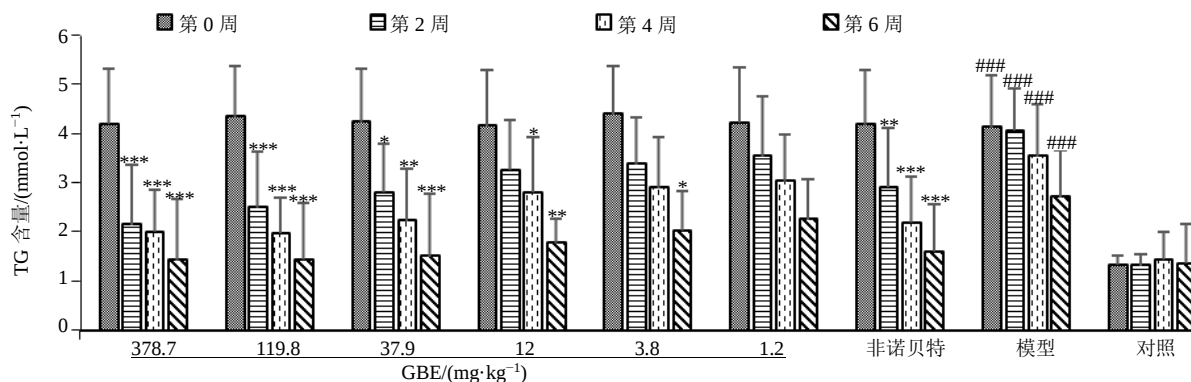
组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/g						
		第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周	第 6 周
对照	—	268.2±19.1	328.7±17.8	371.9±25.6	409.5±30.3	437.0±33.3	450.5±33.3	463.0±33.6
模型	—	263.8±12.7	332.0±17.9	368.5±23.9	409.7±32.8	434.3±37.2	447.5±37.3	459.4±36.7
非诺贝特	20.0	257.2±19.1	317.0±20.2	356.5±23.3	401.8±26.6	420.6±28.8	430.2±24.2	442.3±24.2
GBE	1.2	259.1±23.5	319.2±28.3	352.4±32.6	388.4±38.5	412.3±40.3	425.1±39.8	441.5±48.8
	3.8	255.9±22.7	315.0±28.9	355.7±35.2	396.6±38.3	421.6±45.3	435.1±44.7	453.3±37.5
	12.0	260.8±14.2	326.0±18.5	366.7±24.4	408.6±30.3	434.7±33.1	448.1±33.6	457.9±47.2
	37.9	261.9±12.1	313.9±36.6	361.5±33.7	406.1±40.9	431.8±47.1	445.3±47.3	460.6±34.4
	119.8	259.0±13.9	319.3±26.9	358.5±29.4	398.5±34.8	427.0±38.0	440.1±37.4	447.9±44.8
	378.7	266.9±12.7	324.8±22.8	355.7±30.8	394.5±39.6	415.3±48.7	428.5±49.2	437.7±39.6



与对照组比较: * $P < 0.05$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下图同
* $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as below

图 1 GBE 对高脂血症大鼠血清 TC 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 1 Effect of GBE on TC level in serum of hyperlipidemia rats

图 2 GBE 对高脂血症大鼠血清 TG 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Fig. 2 Effect of GBE on TG level in serum of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

著降低 ($P < 0.01, 0.001$); GBE (37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组自第 2 周血清 TG、TC 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 呈剂量相关性, 但第 4、6 周无明显剂量相关性; GBE (12 mg/kg) 组自第 4 周 TG、TC 水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); GBE (3.8 mg/kg) 组自第 6 周 TG、TC 水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.3 GBE 对高脂血症大鼠血清 HDL-C、LDL-C 水平的影响

如图 3、4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清 HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.05$), LDL-C 水平显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 非诺贝特组第 6 周 HDL-C 水平显著升高 ($P < 0.01$), 第 4、6 周 LDL-C 显著降低 ($P < 0.001$)。GBE (119.8、378.7

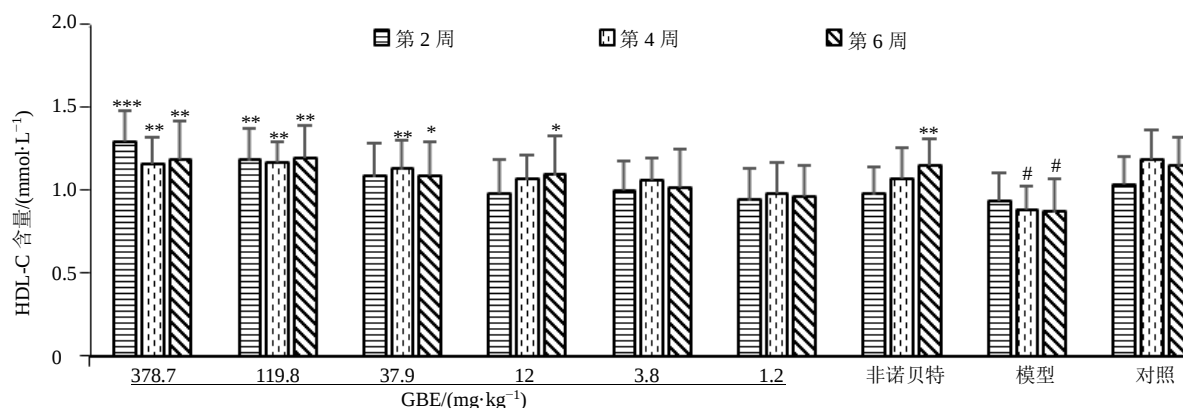


图 3 GBE 对高脂血症大鼠血清 HDL-C 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Effect of GBE on HDL-C level in serum of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

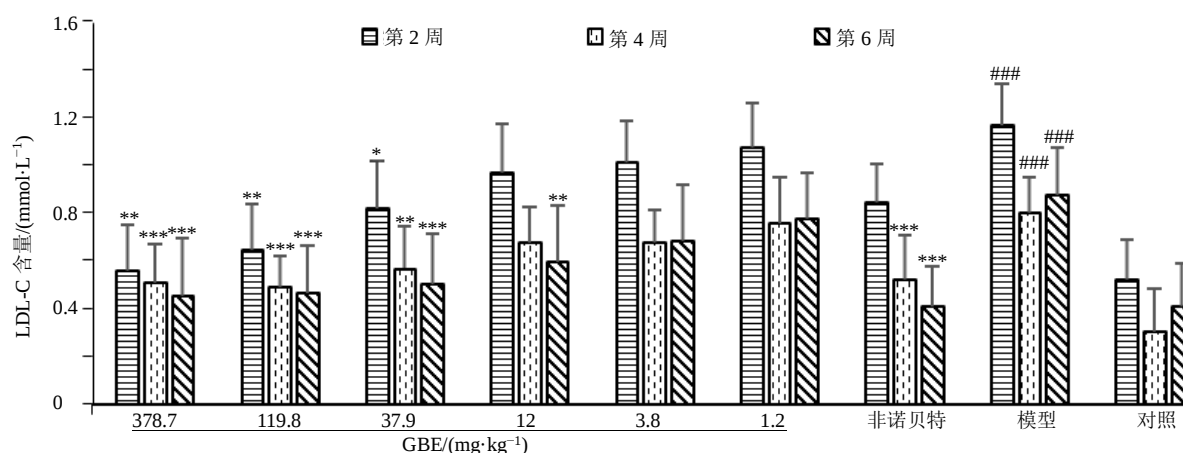


图 4 GBE 对高脂血症大鼠血清 LDL-C 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 Effect of GBE on LDL-C level in serum of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

mg/kg) 组自第 2 周血清 HDL-C 水平显著升高 ($P<0.01, 0.001$), LDL-C 水平显著降低 ($P<0.01, 0.001$); GBE (37.9 mg/kg) 组第 4 周血清 HDL-C 水平显著升高 ($P<0.05, 0.01$), 自第 2 周 LDL-C 水平显著降低 ($P<0.05, 0.01, 0.001$); GBE (12 mg/kg) 组第 6 周血清 HDL-C 水平显著升高 ($P<0.05$), LDL-C 水平显著降低 ($P<0.01$)。

4 讨论

本研究结果表明, 给药第 2 周, GBE (37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组血清 TG、TC、LDL-C 水平显著降低, GBE (119.8、378.7 mg/kg) 组血清 HDL-C 水平显著升高, 呈剂量相关性。给药第 4 周, GBE (12.0、37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组血清 TG、TC 水平显著降低, GBE (37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组血清 HDL-C 水平显著升高, 血清 LDL-C 水平显著降低。给药第 6 周, GBE (3.8、12.0、37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组血清 TG、TC 水平显著降低, GBE (37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组血清 HDL-C 水平

显著升高, GBE (12.0、37.9、119.8、378.7 mg/kg) 组血清 LDL-C 水平显著降低。给药第 4、6 周, GBE (119.8、378.7 mg/kg) 组血清 TG、TC 水平与剂量无明显相关性。以上结果表明, GBE 用药时间对药效影响较大, 用药时间越长, 药效越明显。用药 2 周 GBE 的最低有效剂量为 37.9 mg/kg, 用药 4 周 GBE 的最低有效剂量为 12.0 mg/kg, 用药 6 周 GBE 的最低有效剂量为 3.8 mg/kg。当疗程大于 4 周, 且剂量大于 119.8 mg/kg 时, 提高剂量并不能增强疗效。

GBE 组和非诺贝特组大鼠血清 TC、TG 水平未恢复到正常水平, 可能与模型大鼠用药过程给予高脂饲料有关, 提示适当控制饮食有益于调血脂。Drago 等^[8]研究结果显示, 与每日 1 次口服 80 mg GBE 比较, 成人每日 2 次口服 40 mg GBE, 血药浓度与时间曲线下面积 (AUC)、半衰期 ($t_{1/2}$) 和平均滞留时间 (mean residence time, MRT) 均明显提高, 表明每日 2 次比每日 1 次给药更有利于发挥药效。本研究的最低有效剂量为 3.8 mg/kg, 低于文献

报道的最低有效剂量^[9-13]，可能与每日给药 2 次且给药时间较长有关。

GBE 的临床不良反应涉及全身各系统，如出血（严重颅内出血、严重蛛网膜下腔血、自发性前房出血、严重双侧硬膜下血肿），过敏反应，高血压，粒细胞减少，血管红肿，癫痫发作，中枢神经兴奋，急性肠胃炎等^[13]。因此，GBE 用于临床治疗时剂量不宜大于 119.8 mg/kg（根据 60 kg 成人体质量的体表面积折算，每日用量为 1 193.3 mg），用于预防和保健时用量可低至 3.8 mg/kg（根据 60 kg 成人体质量的体表面积折算，每日用量为 37.8 mg）。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张琪, 马博, 朱玲玲, 等. 银杏叶提取物对实验性高脂血症大鼠的调脂机制 [J]. 华西药学杂志, 2007, 22(6): 605-608.
- [2] 刘磊, 卫昊, 陈丹丹, 等. 银杏叶提取物调控 TLR4/NF-κB 通路减轻急性脑缺血小鼠脑皮质缺血研究 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5282-5288.
- [3] 金鑫. 银杏叶提取物药理研究进展 [J]. 天津药学, 2012, 24(2): 69-71.
- [4] 韦丽华. 31 例银杏叶提取物制剂不良反应的文献分析 [J]. 内科, 2007, 2(6): 994-996.
- [5] Matthews M K Jr. Association of *Ginkgo biloba* with intracerebral hemorrhage [J]. *Neurology*, 1998, 50(6): 1933-1934.
- [6] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 178-179.
- [7] 辅助降血脂功能评价方法 [S]. 2012: 60.
- [8] Drago F, Floriddia M L, Cro M, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of a *Ginkgo biloba* extract [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2002, 18(2): 197-202.
- [9] 陈为健. 银杏叶对高脂血症大鼠血脂水平的影响 [J]. 全科口腔医学电子杂志, 2019, 6(28): 173.
- [10] 丰飞, 金伟东, 吴翔. 银杏叶提取物对动脉粥样硬化大鼠斑块及血脂水平影响 [J]. 亚太传统医药, 2009, 5(10): 10-13.
- [11] 彭亮, 赵鹏, 李彬, 等. 银杏叶提取物对大鼠血脂调节作用的研究 [J]. 应用预防医学, 2012, 18(4): 249-250.
- [12] 陈梅霞, 苏洁, 张玥莉, 等. 银杏叶提取物与银杏黄酮对高脂血症大鼠血脂水平影响的比较研究 [J]. 中国新药杂志, 2014, 23(7): 833-838.
- [13] 郑楠, 孙毅坤. 银杏叶提取物不良反应 16 例总结 [J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(3): 110-111.

[责任编辑 李亚楠]