

文章编号:1000-8551(2005)02-109-03

银杏叶提取物的抗辐照作用

潘伟明 梁红 梁佳勇 李华军

(仲恺农业技术学院农业与生物学院,广东 广州 510225)

摘要:以银杏叶提取物饲喂果蝇,然后对未交尾的雄性果蝇进行辐照,研究其繁殖力的变化。结果表明,银杏叶提取物(ECB)对果蝇的抗辐射作用是明显的,可缓解辐射引起的繁殖力下降,其受辐照后的繁殖力是对照的1.46倍。对银杏叶提取物(ECB)的抗辐射作用机理进行了初步讨论。

关键词:银杏叶提取物(ECB);果蝇;抗辐射;自由基;抗氧化

EFFECTS OF GINKGO LEAF EXTRACT ON IRRADIATION RESISTANCE

PAN Wei-ming LIANG Hong LIANG Jia-yong LI Hua-jun

(College of Agriculture and Biology, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou, Guangdong, 510225)

Abstract: *Drosophila melanogaster* was fed with the extracts of *Ginkgo biloba* (ECB) for several days and then the male maiden flies were irradiated with 30 Gy of ^{60}Co γ -ray. The changes of their reproductivity were observed and the results showed that ECB had significant effects of anti-radiation on the reproductivity of *D. melanogaster*, and 1.46 times of that control reproductivity was alleviated. The mechanism of ECB radioprotection was also discussed in this paper.

Key words: extracts of *Ginkgo biloba* (ECB); *Drosophila melanogaster*; radioprotection; free radical; anti-oxidation

银杏(*Ginkgo biloba* L.)又名白果树,属裸子植物,是我国特有的珍贵树种和多用途的经济树种。银杏叶提取物(ECB)中含有黄酮类化合物(flavonoids)具有抗氧化、清除自由基、增强机体免疫功能、改善心脑血管循环、抑制血小板凝聚酶(PAF)、抗突变、抗衰老、抗菌、消炎、抗病毒、抗癌等多方面的生理活性^[1~3]。含有的黄酮类化合物的植物已知有40多种。按其分子母核结构可分为黄酮醇及其糖苷;黄酮及其甙;黄烷醇和双黄酮类等4类。

关于银杏叶提取物(ECB)抗辐射作用的研究报道目前尚少,梁红等报道银杏幼苗的耐辐射性可能与其所含有的黄酮类化合物有关^[4];银杏的生命力极强,曾报道日本广岛原子弹爆炸中心附近的一棵老银杏树在原子弹爆炸后几个月又萌发新枝至今仍枝叶茂盛^[5]。笔者对银杏叶提取物(ECB)的抗辐射作用进行了初步研究,以期拓宽银杏资源的研究应用领域提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

银杏叶采自广东省和平县下洋镇,晾干,粉碎备用;果蝇(*Drosophila melanogaster*, $2n=8$)为野生型(18[#]),由中山大学生命科学学院提供,2003年9月至2004年2月,在仲恺农业技术学院遗传实验室的

收稿日期:2004-09-15

基金项目:广东省科技厅“百项工程”项目(粤科99B05903X)

作者简介:潘伟明(1970-),男,广东吴川人,实验师,主要从事生物技术工作。Email:pwming33@163.com

恒温培养箱(温度为 25 左右)中饲养。

1.2 辐射处理

配制玉米粉培养基饲养果蝇,转管继代扩大繁殖到足够的数目^[6]。将未交尾的雌、雄性果蝇分别饲养在装有玉米粉培养基的试管中,每管 5 只。将饲养有雄性果蝇的试管进行⁶⁰Co 射线辐照处理(利用华南农业大学辐照中心的钴源进行),剂量率为 0.4~0.8 Gy/min,剂量为 0~120 Gy,每处理 3 个重复。

辐射后,每管的雄果蝇(5 只)与同等数目的雌果蝇进行随机配对(混合饲养于新培养基中)。饲养 10d 后,连续 7d 统计各个处理 F₁ 代果蝇的数目。

1.3 EGB 的提取及果蝇饲喂

提取 EGB^[7],测定其黄酮含量,并计算银杏叶粉末(干)的 EGB 含量。在玉米粉培养基中分别添加不同含量的芦丁和 EGB^[6],使其总的黄酮含量分别为 0(CK)、20、40、60、80 和 100mg/L。将收集的雌、雄果蝇随机配对,移入含有不同浓度添加物的玉米粉培养基中饲养,每管培养 5 对,每处理 3 个重复。

1.4 EGB 抗辐射试验

配制含 EGB 的玉米粉培养基^[6]。分别以芦丁、EGB、银杏叶粉末(干)为添加物,使其总黄酮浓度为 60mg/L,并以不含添加物的玉米粉培养基作为对照。

把果蝇移入 4 种培养基中饲养,完成一个生活史后,除去原有的果蝇。在不同处理培养基中一次性收集的雌、雄未交尾果蝇分别饲养于普通的玉米粉培养基中,每管 5 只。将雄性果蝇进行辐照处理,剂量为 30Gy。处理后立即与同等数目的雌果蝇配对,设 3 个重复。饲养 10d 后,开始连续 7d 统计各处理 F₁ 代果蝇的数目。

2 结果与分析

2.1 辐射对果蝇育性的影响

辐射可明显降低果蝇的育性。从表 1 结果可以看出,30Gy 辐射处理,雄性果蝇还具有一定的繁殖能力,随着辐射剂量的加大,其生育能力急剧下降,75Gy 以上剂量处理达到不育。从表 1 结果推测,引起雄性果蝇半不育的辐射剂量应低于 30Gy。因此,我们在抗辐射试验中选用 30Gy 的辐射剂量对雄性果蝇进行辐射处理。虽然野生型果蝇有较高的繁殖率,但考虑所有果蝇都孵化出来需要较长时间且容易致先孵化果蝇的非正常死亡。本试验只统计前 7d 孵化的果蝇数。

2.2 不同浓度的 EGB 培养基的饲喂结果

从表 2 可以看出,在培养基中添加 EGB 或芦丁后,果蝇的繁殖力有所下降,但在本试验中其繁殖力的下降与添加物浓度

并未表现出严格的相关性。比较而言,EGB 对果蝇繁殖力的影响要大于芦丁。从表 2 结果可知,果蝇生活在黄酮浓度为 60mg/L 的玉米粉培养基中,仍保持有相对较高的繁殖能力。所以在以后的抗辐射试验中,我们在玉米粉培养基中添加物的黄酮浓度为 60mg/L,以期达到最佳的实验效果。

表 1 果蝇经不同辐射剂量处理后 F₁ 代的数目

Table 1 Number of *Drosophila melanogasters* of F₁ generation after ⁶⁰Co -radiation

剂量 dose (Gy)	重复数 replication	处理个数 No. of treatment	F ₁ 代果蝇的数目 No. of <i>Drosophila melanogasters</i> in each 5 pairs of F ₁ generation
0	3	5	72
30	3	5	27.7
45	3	5	8
60	3	5	3
75	3	5	0
90	3	5	0
105	3	5	0
120	3	5	0

2.3 EGB 饲喂对果蝇辐射抗性的影响

从表 3 的结果中可以看出,饲养在添加有 ECB 和相同黄酮浓度(60mg/L)的银杏叶粉末(干)的玉米粉培养基的雄性果蝇,经过 30Gy 射线辐照处理,再与相同数目的雌果蝇配对后,其产生的 F₁ 代果蝇数目分别为 76 和 71,约为同剂量辐照的对照组(没有添加物)的 1.46 和 1.39 倍。此结果显示银杏叶中含有的黄酮类化合物提高了果蝇的抗辐射能力。而饲养在添加芦丁(60mg/L)的培养基中的果蝇经辐照处理后,产生的 F₁ 代果蝇数目与对照组相当,没有明显变化,这一结果还需进一步的验证。初步结果表明,ECB 具有明显的抗辐射效果,这一结果通过同剂量辐照且添加相当黄酮浓度的银杏叶粉末(干)饲喂的果蝇中得到进一步的证明。

表 2 不同 ECB 浓度培养基饲喂果蝇 F₁ 代平均数

添加物总 黄酮浓度 flavonoids content (ng/L)	F ₁ 代果蝇平均数 average No. of <i>Drosophila melanogasters</i> of F ₁ generation	
	芦丁 rutin	银杏叶提取物(ECB) extracts of <i>Ginkgo biloba</i> (ECB)
0	109.3	109.3
20	50.7	42.7
40	42.3	28.3
60	55.3	37.3
80	45.0	25.0
100	31.0	26.7

表 3 不同添加物饲喂果蝇经辐射处理后的 F₁ 代个体数

Table 3 Number of *Drosophila melanogasters* of F₁ generation after their parent fed with ECB、rutin and ginkgo leaf followed by ⁶⁰Co -radiation the male parent

剂量 dose (Gy)	F ₁ 代果蝇数目 No. of <i>Drosophila melanogasters</i> of F ₁ generation			
	对照(CK) control	银杏叶提取物(ECB) extracts of <i>Ginkgo biloba</i> (ECB)	芦丁 rutin	银杏叶粉末(干) <i>Ginkgo biloba</i> leaves powder (dry)
30	52	76	52	71

3 结论和讨论

3.1 银杏叶提取物(EGB)、芦丁在实验中的效果分析

本实验结果显示,银杏叶提取物(ECB)具有明显的抗辐射性。银杏叶提取物(ECB)的有效成分主要是黄酮类化合物。黄酮类化合物的分子母核黄酮基因中含有还原性羟基,可直接清除 O₂⁻、OH、H₂O₂ 和捕捉脂质自由基、脂质过氧自由基等^[8~12]。

而同属于黄酮类化合物的芦丁则没有表现出明显的抗辐射作用。芦丁是一种黄酮糖苷,是槲皮素的 3-O-芸香糖苷,在其分子结构中有两个较长的共轭体系。芦丁分子结构中的酚羟基特别是 B 环 4 位和 3,4 位的羟基是芦丁抗氧化活性的功能基团,其次是 2,3 位的双键^[13]。结构上,银杏叶提取物(ECB)和芦丁均具有清除自由基和抗氧化的功能基团,两者抗辐射性差异的可能原因是:芦丁成分单一、结构相对较简单,且在水中有一定溶解度,可能在果蝇体内易被分解;而 ECB 为多种成分且大多属黄酮甙,极难溶于水,结构复杂而难以被分解。或者是两者清除自由基的作用机制有所不同,造成了银杏叶提取物(ECB)和芦丁抗辐射性的差异,关于这方面还有待于进一步深入研究。

3.2 银杏叶提取物(EGB)抗辐射性的应用

现代家居装饰、带有辐射性的职业工作、肿瘤等疾病的诊断和放、化疗中存在的放射性都对人们的身体健康构成威胁。研究表明,即使是长期接触低剂量的辐射的人,也都有不同程度的全身乏力、记忆力减退、免疫功能下降;接受颈部以上放、化疗的患者出现神经功能受损、颈部放射性纤维化、甲状腺功能及垂体功能衰退、听功能下降、眼晶状体混浊等放射性损伤效应^[14~17]。研究表明辐射亦对男性生殖机能造成一定的功能损害,如精子数量减少、畸变等^[18]。

给生物机体补充外源自由基清除剂或抗氧化剂,以此减少放射引起的机体内自由基的大量产生和累积,维持超氧化物歧化酶(SOD)的活性,降低脂质过氧化物(LPO)含量^[19],从而减小辐射对机体的损伤程度是辐射防护的重要手段之一。因此,研究开发毒副作用小的天然抗辐射药物是非常必要的。本

文研究显示银杏叶提取物(EGB)具有明显的抗辐射作用,因其成本相对较低,且银杏药在临床上未发现有不利的副作用,因而可作为天然抗辐射物质的一个良好选择。银杏叶提取物(EGB)抗辐射性的临床应用还有待于进一步深入的研究。

通过本试验研究,可初步得出以下几点结论:(1)银杏叶提取物饲喂果蝇之后,对其繁殖力有一定的影响,导致果蝇平均繁殖率的下降。(2)30 Gy 以上 ^{60}Co 射线辐照处理严重降低果蝇繁殖力,75 Gy 处理可导致完全不育。(3)银杏叶提取物饲喂果蝇之后,可明显缓解 ^{60}Co 射线对果蝇的损伤,提高其繁殖率。

参考文献:

- [1] 梁淑轩,孙汉文. 银杏叶资源开发利用研究进展. 河北大学学报(自然科学版),2003,23(2):204~208
- [2] 孙芳华,王宗德. 银杏叶黄酮类化合物研究及开发利用现状. 江西林业科技,1999,(6):41~44
- [3] 刘莉华,宛晓春,等. 黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展(综述). 安徽农业学报,2002,29(3):265~270
- [4] 梁红,刘胜洪,等. 银杏幼苗耐辐射性初步研究. 核农学报,2001,15(4):219~223
- [5] 周维书,黄振安,等编著. 银杏叶及其制剂. 北京:化学工业出版社,1995,1~14
- [6] 季道藩主编. 遗传学实验. 北京:中国农业出版社,1992,70
- [7] 梁红,潘伟明,等. 银杏中叶黄酮提取方法比较. 植物资源与环境,1999,8(3):12~17
- [8] 洪梅,梁红,潘伟明. 银杏叶黄酮类化合物生物效应研究概况. 农业与技术,2003,2(1):33~35
- [9] 梁英,韩鲁佳. 黄芩中黄酮类化合物药理学作用研究进展. 中国农业大学学报,2003,8(6):9~14
- [10] 赵军. 黄酮类化合物的抗氧化作用机制. 华北煤炭医学院学报,2003,15(3):306~307
- [11] 吴京燕,程光宇,等. 灵芝多糖合剂抗辐射保健功能的研究. 南京师大学报(自然科学版),2003,26(30):79~81
- [12] 卢忠明. 银杏叶提取物的药理作用的生理基础及其临床应用. 广西医学院学报,2001,4(4):131~132
- [13] 何正显,信玉琼. 银杏叶的化学成分及抗自由基作用探讨. 山西中医,2003,19(1):46~47
- [14] 刘伟,汪春亮,等. 淄博市低剂量电离辐射工作者健康状况调查. 中华放射医学与防护杂志,1997,17(6):431~432
- [15] 于永红,高忠贤,等. 电离辐射对职业照射生物效应影响的调查研究. 中国辐射卫生,2003,12(3):185~186
- [16] 姜立民,任为端,等. 放疗引起的脑和脊髓辐射损伤临床与磁共振分析. 中国辐射卫生,2001,10(4):243
- [17] 陈锦生,詹永忠,等. 鼻咽癌放射性脑损伤 35 例分析. 医学临床研究,2004,21(1):36~38
- [18] 王桂珍,王海燕,等. 微波与高频辐射对男工生殖机能的影响. 内蒙古医学杂志,2001,33(6):546~565
- [19] 陈瑗,周玫编著. 自由基医学. 北京:人民军医出版社,1991,362~370

新书推荐《食品辐照加工技术》

《食品辐照加工技术》是《现代化食品加工新技术丛书》中的一本,主要介绍食品辐照加工技术的基本原理、加工工艺、技术经济或行性、辐照检疫、辐照食品质量管理、辐照食品商业化和国际贸易,较全面地反映了粮食产品、园艺产品、畜禽产品、水产品、功能食品的辐照加工技术的国际和中国发展现状和前景。本书作者为汪勋清、哈益明、高美须,由化学工业出版社出版 2005 年 1 月出版发行,新华书店北京发行所经销。