

# 葡萄籽原花青素的毒理学研究

陈会丛, 翟建英, 张广平, 杨海润, 张思玉, 朱晓光, 蒋威, 李晋生\*

(北京中研同仁堂医药研发有限公司(中药复方新药开发国家工程研究中心), 北京 100079)

**摘要:**目的:观察葡萄籽提取物原花青素的急性毒性和长期毒性,为其安全应用提供参考。方法:急性毒性实验,对小鼠灌服不同浓度的原花青素混悬液,采用Bliss法计算其LD<sub>50</sub>。长期毒性实验,将SD大鼠随机分为正常对照组和原花青素高、中、低剂量(428.57、214.29、42.86mg/(kg·d))组,连续灌胃给药26周,停药恢复4周,观察大鼠的一般行为、体重增长、食量消耗,进行血液学及血液生化学指征、尿常规检查、系统尸解及组织病理学诊断。结果:原花青素小鼠LD<sub>50</sub>为3451.9mg/kg。长期毒性实验中,与同期对照组比较,原花青素高、中、低3个剂量组动物行为活动、进食量等均未见异常;血液学指标、血液生化指标和尿液指标未发现与供试品有关的异常改变,病理组织学检查未发现与原花青素相关的异常改变。结论:在本实验条件下未观察到葡萄籽提取物原花青素有明显毒性反应。

**关键词:**原花青素,急性毒性,半数致死量,长期毒性

## Experimental studies on the toxic effect of grape seed proanthocyanidin extract

CHEN Hui-cong, ZHAI Jian-ying, ZHANG Guang-ping, YANG Hai-run, ZHANG Si-yu, ZHU Xiao-guang, JIANG Wei, LI Jin-sheng\*

(National Engineering Research Center for R&D of TCM Multi-ingredient Drugs, Beijing 100079, China)

**Abstract:** Objective: To study the acute and long-term toxicity of grape seed proanthocyanidin extract (GSPE), in order to provide safety experimental proof for clinical application. Methods: In the acute toxicity study, mice were intragastrically administered with GSPE in different concentrations, and calculate the median lethal dose (LD<sub>50</sub>) by Bliss method. In the long-term toxicity study, rats were randomly divided into four groups: blank control group, maximum (428.57mg/(kg·d)), middle (214.29mg/(kg·d)), minimum (42.86mg/(kg·d)) dose group of GSPE. After continuously took GSPE orally for 26 weeks, rats behavior, weight gain, food consumption, blood test, biochemistry test, urine test, systematic autopsy and histopathologic diagnosis were observed. These above indexes were inspected again 4 weeks after cease of feeding. Results: The oral acute toxicity study of GSPE in mice revealed that the LD<sub>50</sub> was 3451.9mg/kg. The long-term toxicity study showed that no significant differences were observed in rat's behaviors, food intake and relative examination indexes among the 3 different dosage groups of GSPE, which compared with normal control group. There was no abnormal result of blood test, biochemistry test, urine test and histopathologic diagnosis in rats. Conclusion: These studies demonstrated that GSPE was safe and did not cause any detrimental effects *in vivo* under these conditions in this study.

**Key words:** grape seed proanthocyanidin extract (GSPE); acute toxicity; LD<sub>50</sub> long-term toxicity

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)02-0317-07

葡萄籽原花青素 (grape seed proanthocyanidin extract, GSPE) 是从葡萄籽中分离出来的一类多酚类化合物, 其原花青素含量超过95%。近年来的研究表明其具有很高的营养价值和药用价值, 除具有抗氧化活性外, 还具有酶抑制活性、血管保护活性、抗炎活性、抗肿瘤活性等, 特别是对自由基清除及机体抗氧化防御系统有明显的影 响, 对氧化损伤有良好的保护作用<sup>[1-7]</sup>。因此, 其在食品、保健品、药品开发中被广

泛应用, 近年来GSPE已成为我国保健食品中的一种常用原料, 但对其安全性实验研究鲜有报道, 对于以GSPE为原料的保健食品研发带来一定隐患, 因此, 本研究旨在对其毒性进行系统性评价, 为其安全合理应用提供指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

葡萄籽原花青素 批号: 1104009-18, 原花青素含量为99.83%, 天津市尖峰天然产物研究开发有限公司; ICR小鼠 18~22g, 清洁级, 购自北京大学医学部, 动物合格证号SCXK(京) 2011-0012; SD大鼠 SPF级, 90~110g, 动物合格证号: SCXK(京) 2009-0017,

收稿日期: 2013-06-24 \* 通讯联系人

作者简介: 陈会丛(1968-), 女, 博士, 高级讲师, 研究方向: 中药药理学。

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)基金(2010AA023006)。

由中国食品药品检定研究院实验动物资源中心提供;血液生化试剂盒:测定所用12项试剂盒(尿素氮(BUN)、葡萄糖(GLU)、总胆固醇(CHO)、总胆红素(T.Bil)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、碱性磷酸酶(ALP)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、肌酐(Crea)、甘油三脂(TG)) 中生北控生物科技股份有限公司;血球稀释液、溶血剂、鞘液、血球清洗液、酶清洗液 雅培公司;尿十一项试纸条 德国科宝公司;凝血酶、凝血酶原试剂 北京中勤世帝科学仪器有限公司。

CD3700全自动血球计录仪 美国雅培公司;XL-300全自动生化分析仪 德国欧霸公司;EasyLyte PLUS型钠/钾/氯分析仪 美国Medica公司;Combi Scan 100型尿液检测仪 德国Analyticon Biotechnologies AG;LG-PABER-I型血小板聚集凝血因子分析仪 北京中科富邦医疗设备有限公司;OLYMPUS BX61型显微镜及图像分析系统 日本奥林巴斯公司。

## 1.2 实验方法

1.2.1 小鼠急性毒性实验 参考文献[8-9]的方法。

根据预实验结果进行正式实验。60只小鼠适应性喂养3d,随机分为6组,每组10只,雌雄各半。实验当天小鼠禁食12h,自由饮水,按体重灌胃给予不同浓度的原花青素混悬液,药物剂量分别为4800、3840、3072、2457.6、1966.08mg/kg,给药体积0.2mL/10g,正常对照组给予等体积的蒸馏水,各组于上午给药1次,即刻及连续观察14d之内的动物反应。观察小鼠的一般表现、呼吸及活动状态及有无惊厥等,中毒症状发生的时间、持续时间、恢复情况,记录动物死亡数、死亡时间,死亡动物进行尸体解剖,记录所观察到的变化。用Bliss法计算小鼠灌胃给予原花青素的半数致死量(LD<sub>50</sub>)。

1.2.2 大鼠长期毒性实验 参考文献[10-13]的方法。90~110g SPF级SD大鼠180只,雌雄各半,适应性喂养一周后随机分为4组,每组40只,雌雄各半。实验分为原花青素高(428.57mg/(kg·d))、中(214.29mg/(kg·d))、低(42.86mg/(kg·d))剂量组,分别相当于成人临床日用量(300mg/(人·日))的100、50、10倍,另设一组空白对照组。将供试品用蒸馏水配制成所需浓度,每天

表1 原花青素对雌鼠血液学的影响

Table 1 Effect of GSPE on haematological parameters of female rats

检测指标	时间	正常对照组	原花青素		
			高剂量组	中剂量组	低剂量组
WBC (10 <sup>9</sup> /L <sup>-1</sup> )	13周	7.78±2.37	6.31±2.24	4.71±1.45*	5.47±0.86
	26周	5.37±2.08	5.36±2.10	5.03±2.03	5.97±2.66
	恢复4周	13.79±4.32	13.62±3.29	8.50±2.68*	9.55±4.13
RBC (10 <sup>12</sup> /L <sup>-1</sup> )	13周	6.11±0.44	5.85±0.26	6.03±0.45	5.78±0.40
	26周	6.22±0.26	6.07±0.26	5.83±0.40**	6.13±0.20
	恢复4周	7.49±0.49	7.35±0.14	6.80±0.43**	5.78±0.40
HGB (g/L)	13周	14.18±0.81	13.56±0.74	13.98±0.89	13.64±1.11
	26周	15.49±0.61	15.21±0.77	14.63±0.72**	15.40±0.26
	恢复4周	16.58±1.08	15.94±0.64	15.34±0.73*	15.48±0.71*
HCT (%)	13周	29.40±1.96	28.08±1.44	28.82±1.83	27.44±1.93
	26周	29.59±1.18	28.84±1.28	27.62±1.76**	29.19±0.77
	恢复4周	33.46±2.60	32.12±0.90	30.18±1.77*	30.84±1.43*
PLT (10 <sup>9</sup> /L <sup>-1</sup> )	13周	599.00±70.30	436.60±202.60	599.60±52.06	585.60±119.52
	26周	463.90±104.56	609.80±93.14*	557.80±136.18	496.80±166.14
	恢复4周	539.80±79.99	585.00±36.54	675.00±78.20*	642.40±114.15
Ly (%)	13周	6.49±2.09	5.48±2.07	3.98±1.23*	4.87±0.88
	26周	76.80±6.76	74.09±6.17	72.16±8.61	73.49±6.09
	恢复4周	47.26±28.28	39.46±28.99	65.18±13.79	59.30±11.78
Gr (%)	13周	1.09±0.59	0.65±0.27	0.54±0.20*	0.44±0.09**
	26周	20.08±4.27	21.53±6.39	24.84±8.09	23.39±4.98
	恢复4周	39.38±32.24	47.04±25.37	18.36±3.80	29.54±12.48
PT (s)	13周	8.42±0.43	8.20±0.21	8.42±0.31	8.70±0.33
	26周	6.59±1.02	6.86±0.41	7.02±0.23	6.87±1.00
	恢复4周	9.56±0.21	9.12±0.20	9.16±0.50	9.26±0.40
APTT (s)	13周	15.68±0.89	14.86±1.70	16.22±1.83	16.96±1.59
	26周	10.11±0.63	8.53±1.63*	10.10±1.38	16.86±14.44
	恢复4周	9.72±1.72	9.76±0.89	9.82±1.04	9.72±0.81

注:各给药组与对照组比较,\* $p < 0.05$ ,\*\* $p < 0.01$ ;WBC:白细胞计数,RBC:红细胞计数,HGB:血红蛋白含量,HCT:红细胞压积,PLT:血小板计数,Ly:淋巴细胞分类,Gr:中性白细胞分类,PT:血浆凝血酶原时间,APTT:活化部分凝血活酶时间;表2同。

灌胃1次, 给药体积均为1mL/100g体重, 每周给药6d, 正常对照组灌服同体积蒸馏水, 连续灌胃给药26周, 停药恢复4周。每天固定时间: 早上9:00开始给药, 每日观察动物的外观体征、精神状态、行为活动、腺体分泌、呼吸、饮水和二便、毛发等情况; 每周称体重1次, 计算饲料消耗量、体重增长值及进食量(进食量g/只/天), 并根据体重调整给药量。分别于给药后13周、给药后26周和停药4周, 各给药组分别取动物10只(13周)、20只(26周)和各组剩余动物10只(停药4周), 对动物一般行为、体重增长、食量消耗、血液学、血液生化检查、尿常规检查、系统解剖及组织病理学进行检测。

1.2.3 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 应用SPSS 11.0统计学软件进行统计学分析, 经方差齐性检验, 方差齐的数据采用LSD进行统计分析, 方差不齐的数据采用Tambane进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠急性毒性实验

给予原花青素5h左右, 小鼠出现死亡, 大多数动物一周内死亡, 且死亡情况相似。表现为呼吸困难, 给药后小鼠自发活动减少, 至衰竭死亡。但死亡动物

解剖肉眼观察未见心、肝、肺、肾、脾等重要器官出血、坏死等异常表现。用Bliss法计算出小鼠灌胃给予原花青素的LD<sub>50</sub>为3451.9mg/kg, 相当于临床成人日用剂量的805倍。

### 2.2 大鼠长期毒性实验

2.2.1 大鼠一般状况、体重及摄食量 原花青素高、中、低剂量组连续灌胃给药26周及恢复4周期间, 各组动物一般状况良好, 未见动物死亡。皮毛光泽, 一般活动以及二便均未见异常, 口、鼻、眼无异常分泌物, 未见呼吸困难等异常改变, 动物未见恶心、呕吐等胃肠道反应, 各给药组体重变化与对照组比较均无显著性差异。给药期间和停药后观察期间, 原花青素高、中、低三个剂量组动物摄食量与对照组比较无显著差异。

2.2.2 大鼠的血液学指标 结果见表1、表2。与正常对照组比较, 给药13周时原花青素中剂量组雌性大鼠白细胞减少( $p < 0.05$ ), 淋巴细胞分类降低( $p < 0.05$ ), 中性白细胞分类降低( $p < 0.05$ ), 低剂量组中性白细胞分类明显降低( $p < 0.01$ ); 原花青素高、中、低剂量组雄性大鼠红细胞显著增多( $p < 0.05$ ), 原花青素高、低剂量组雄性大鼠血红蛋白含量均升高( $p < 0.05$ ),

表2 原花青素对雄鼠血液学的影响

Table 2 Effect of GSPE on haematological parameters of male rats

检测指标	时间	正常对照组	原花青素		
			高剂量组	中剂量组	低剂量组
WBC (10 <sup>9</sup> /L <sup>-1</sup> )	13周	7.67±2.22	9.65±0.70	8.14±1.27	10.29±1.70*
	26周	9.15±2.31	8.20±1.74	7.68±2.01	7.78±2.62
	恢复4周	11.00±2.67	9.12±1.96	9.41±4.23	8.85±2.93
RBC (10 <sup>12</sup> /L <sup>-1</sup> )	13周	6.09±0.22	6.55±0.22*	6.50±0.26*	6.69±0.31**
	26周	6.71±0.36	6.62±0.28	6.83±0.28	6.70±0.33
	恢复4周	7.44±0.54	7.51±0.40*	6.91±0.42*	6.68±0.57*
HGB (g/L)	13周	13.70±0.50	14.46±0.47*	13.78±0.47	14.52±0.75*
	26周	16.18±0.78	15.69±0.80	16.22±0.61	15.83±0.74
	恢复4周	16.36±1.47	16.64±0.58*	15.12±0.87	14.86±0.74*
HCT (%)	13周	27.16±3.83	29.66±0.93	29.10±0.74	30.28±1.77*
	26周	30.55±1.63	29.54±1.65	30.59±1.27	29.98±1.42
	恢复4周	32.76±3.61	33.18±1.54	30.14±1.50	29.40±1.69*
PLT (10 <sup>9</sup> /L <sup>-1</sup> )	13周	524.40±277.97	561.20±179.84	611.80±48.65	577.20±94.64
	26周	597.50±134.87	561.90±69.23	585.20±122.40	466.90±150.54*
	恢复4周	601.80±113.77	630.80±51.08	577.20±112.22	556.00±85.64
Ly (%)	13周	6.61±1.90	8.14±0.47	6.60±1.29	8.84±1.62*
	26周	78.38±6.05	79.82±4.60	78.06±2.01	78.48±5.40
	恢复4周	59.28±20.42	50.24±14.90	57.64±22.13	61.44±21.49
Gr (%)	13周	0.99±0.42	1.18±0.21	1.24±0.66	1.16±0.24
	26周	17.15±3.42	17.74±4.69	19.66±1.75	18.56±3.51
	恢复4周	13.44±4.02	35.96±15.12	29.90±13.05	26.72±15.52
PT (s)	13周	9.04±0.54	8.56±0.22	8.26±0.48	8.68±0.70
	26周	8.46±0.40	8.05±0.41	7.15±0.41	7.06±0.37
	恢复4周	8.50±0.65	8.80±0.45	8.54±0.19	8.54±0.62
APTT (s)	13周	18.70±1.56	18.54±2.54	19.12±2.16	17.50±2.39
	26周	20.44±4.50	20.94±4.79	17.38±2.30**	16.32±3.88**
	恢复4周	10.88±1.39	12.06±1.36	11.20±0.62	11.58±1.52

白细胞计数低剂量组明显升高 ( $p < 0.05$ ); 低剂量组淋巴细胞分类升高 ( $p < 0.05$ )。

原花青素除给药26周时原花青素中剂量组雌性大鼠红细胞数量减少 ( $p < 0.01$ ), 红细胞压积降低 ( $p < 0.01$ ); 高剂量组血小板计数升高 ( $p < 0.05$ )。中剂量组雌性大鼠血红蛋白含量降低 ( $p < 0.01$ ), 高剂量组雌性大鼠APTT缩短 ( $p < 0.05$ ), 其他各期PT和APTT与对照组比较无显著差异。雄性大鼠各项血象指标与正常对照组比较, 低剂量组大鼠血小板计数降低 ( $p < 0.05$ ), 中、低剂量组大鼠APTT均明显缩短 ( $p < 0.01$ )。

停药4周, 原花青素中剂量组雌性大鼠红细胞计数明显低于对照组 ( $p < 0.01$ ), 低剂量组血红蛋白含量降低 ( $p < 0.05$ ), 中、低剂量组红细胞压积均降低 ( $p < 0.05$ )。原花青素高剂量组雄性大鼠红细胞和血红蛋白含量均增高 (与对照组比较  $p < 0.05$ ), 但中、低

剂量组雄性大鼠红细胞减少 ( $p < 0.05$ ), 小剂量组血红蛋白含量降低 ( $p < 0.05$ ); 各剂量组余各项血象指标与对照组比较无显著性差异。

2.2.3 大鼠的血液生化学指标 原花青素给药13周原花青素中剂量组雌性大鼠碱性磷酸酶水平降低 ( $p < 0.05$ ), 高剂量组大鼠血糖升高 ( $p < 0.05$ ), 但中剂量组血糖降低 ( $p < 0.05$ )。雄性大鼠各项血液生化学指标中, 原花青素低剂量组血清总蛋白降低 ( $p < 0.05$ )。

给药26周原花青素低剂量组雌性大鼠血清总蛋白降低 ( $p < 0.05$ )。原花青素中、低剂量组雄性大鼠碱性磷酸酶水平升高 ( $p < 0.05$ ), 中、低剂量组雄性大鼠ALT、AST水平与对照组比较均明显降低 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 中剂量组雄性大鼠总胆固醇升高 ( $p < 0.05$ ), 高、低剂量组雄性大鼠血糖升高 ( $p < 0.05$ ), 高、中、低剂量组雄性大鼠总胆红素水平不同程度地升高 ( $p < 0.05$ ,

表3 原花青素对雌鼠血液生化学指标的影响

Table 3 Effect of GSPE on serum biochemical parameters of female rats

检测指标	时间	正常对照组	原花青素		
			高剂量组	中剂量组	低剂量组
ALB (g/L)	13周	43.48±3.15	44.92±2.16	42.84±1.58	40.58±2.93
	26周	35.74±1.22	36.59±1.09	36.34±1.44	35.03±1.90
	恢复4周	37.48±0.80	36.16±1.12	36.12±0.78	36.68±1.69
ALP (IU)	13周	58.70±30.20	67.80±36.24	38.40±9.56*	37.20±8.67
	26周	82.50±11.13	82.60±13.30	73.30±22.36	90.70±19.98
	恢复4周	107.60±6.58	79.20±20.19*	69.40±12.34**	97.80±28.01
ALT (U/L)	13周	57.76±11.23	48.78±12.90	48.12±8.32	47.60±16.29
	26周	92.26±48.69	88.63±25.35	68.13±37.97	78.76±37.17
	恢复4周	133.06±30.00	147.56±57.00	103.34±32.39	183.30±210.83
AST (U/L)	13周	258.00±44.30	213.60±79.80	215.00±69.76	210.80±102.41
	26周	410.90±182.55	413.00±133.68	276.40±140.46	341.10±197.94
	恢复4周	441.00±95.32	440.80±124.32	371.60±69.82	315.00±111.02
T-CHO (mmol/L)	13周	2.04±0.29	2.05±0.37	2.45±0.19	2.59±0.70
	26周	1.84±0.29	2.06±0.44	1.84±0.28	1.84±0.42
	恢复4周	2.11±0.41	1.84±0.56	1.91±0.71	2.14±0.65
GLU (mmol/L)	13周	9.54±3.20	13.24±2.66*	5.42±2.58*	12.30±2.00
	26周	9.22±2.03	7.41±2.40	8.64±1.87	9.78±3.18
	恢复4周	9.80±3.26	10.72±3.02	7.18±0.74	11.20±1.53
TBIL (μmol/L)	13周	5.42±1.24	5.80±2.19	5.38±0.89	3.94±0.54
	26周	4.50±1.53	5.32±1.84	4.66±1.32	4.27±0.82*
	恢复4周	5.50±0.46	5.68±1.22	6.00±0.88	7.90±2.58
TG (mmol/L)	13周	0.80±0.46	1.15±0.71	0.82±0.34	0.64±0.26
	26周	1.13±0.46	1.21±0.48	1.07±0.29	1.15±0.56
	恢复4周	0.62±0.14	0.59±0.23	0.84±0.25	1.33±1.27
TP (g/L)	13周	69.16±5.80	69.50±5.38	67.32±1.75	65.92±5.90*
	26周	69.33±5.34	68.24±3.40	66.43±6.22	68.79±5.89
	恢复4周	67.50±2.32	65.48±3.11	64.72±3.43	63.68±0.44*
UREA (mmol/L)	13周	8.42±3.12	8.38±0.51	7.08±0.66	7.56±1.87
	26周	7.99±0.65	7.67±1.04	7.82±1.03	8.27±1.01
	恢复4周	8.00±3.39	9.24±2.80	7.66±1.28	9.68±3.88

注: 给药组与对照组比较, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ; ALB: 白蛋白, ALP: 碱性磷酸酶, ALT: 谷丙转氨酶, AST: 门冬氨酸转氨酶, T-CHO: 总胆固醇, GLU: 葡萄糖, TBIL: 总胆红素, TG: 甘油三酯, TP: 总蛋白, UREA: 尿素; 表4同。

$p < 0.01$ ), 其余各项生化指标与对照组比较均无显著性差异。

停药4周各剂量组雌鼠碱性磷酸酶不同程度的降低 ( $p < 0.05$ ), 低剂量组血清总蛋白含量降低 ( $p < 0.05$ ), 其余各项生化指标与对照组比较均无显著性差异 ( $p > 0.05$ )。原花青素高、中剂量组雄性大鼠总胆固醇升高 ( $p < 0.05, p < 0.01$ ), 高剂量组雄性大鼠总胆红素降低, 其余各项生化指标与对照组比较均无显著性差异 ( $p > 0.05$ )。结果见表3~表4。

**2.2.4 大鼠系统解剖检查结果** 原花青素三个剂量组给药13周、26周以及停药4周, 各组动物的主要脏器肉眼观察均表面光滑, 未见颜色、形态和硬度异常, 未见水肿、淤血和坏死等改变, 腹腔、胸腔未见渗液和粘连, 脏器组织未见明显的肉眼可见的病理变化。

**2.2.5 大鼠脏器重量及脏器系数** 给药13周原花青素高剂量组雌鼠肝脏系数增高 (与对照组比较  $p < 0.05$ )。给药26周原花青素高、中、低各剂量组雌鼠肺

系数均升高 (与对照组比较  $p < 0.05, p < 0.01$ ), 高剂量组雌鼠肾系数升高 (与对照组比较  $p < 0.05$ ), 各剂量组雄性大鼠各脏器系数与对照组比较无显著性差异。停药4周, 原花青素各剂量组雌性和雄性大鼠各脏器系数与对照组比较无显著性差异。雄鼠脏器系数数据表从略, 雌鼠脏器系数结果见表5。

**2.2.6 尿液分析** 给药13周、26周和恢复4周检测各组动物尿液指标显示, 尿糖、尿酮、尿胆素原、尿蛋白等10项指标与正常对照组比较无显著差异。

**2.2.7 病理学检测** 病理学观察长期给药观察大鼠心脏、肝脏、脾脏、肺及支气管、肾、大脑、小脑、膀胱、脊髓、坐骨神经、胸骨、脑垂体、颌下腺、胸腺、腹腔肠系膜淋巴结、甲状腺、腺、前胃及腺胃、卵巢和子宫 (雌性)、睾丸及附睾 (雄性)、前列腺结构。剖检观察及病理学镜检未见毒副作用引起的病理组织学改变。原花青素对大鼠经口给药13周、26周及停药4周后, 高剂量组动物的各脏器组织未见与受试药毒性有关的病变。

表4 原花青素对雄鼠血液生化指标的影响

Table 4 Effect of GSPE on serum biochemical parameters of male rats

检测指标	时间	正常对照组	原花青素		
			高剂量组	中剂量组	低剂量组
ALB (g/L)	13周	38.64±2.40	37.90±0.72	38.42±1.24	40.78±2.46
	26周	33.80±2.18	34.97±1.54	36.03±2.00*	35.88±1.73*
	恢复4周	37.24±1.05	37.74±1.19	37.84±0.94	37.54±1.62
ALP (IU)	13周	83.40±14.92	80.00±10.42	100.00±20.17	91.20±16.27
	26周	84.90±18.78	86.90±26.39	88.60±16.34*	91.90±25.53*
	恢复4周	79.20±21.48	90.00±31.48	74.00±14.71	73.40±15.13
ALT (U/L)	13周	70.30±14.63	93.14±16.51	100.88±52.29	92.50±36.38
	26周	122.06±39.69	108.56±39.70	82.28±22.94*	80.63±31.06*
	恢复4周	127.92±78.08	124.46±35.02	97.36±20.60	204.92±165.52
AST (U/L)	13周	294.60±86.90	407.80±73.03	368.20±82.61	336.00±142.39
	26周	478.40±136.65	466.50±131.77	345.90±129.82*	285.40±113.69**
	恢复4周	355.80±207.38	384.20±90.16	408.60±104.69	459.80±167.81
T-CHO (mmol/L)	13周	2.45±0.67	2.09±0.43	2.13±0.22	2.45±0.42
	26周	1.77±0.29	2.03±0.42	2.16±0.36*	2.03±0.29
	恢复4周	2.23±0.47	1.70±0.24*	1.58±0.28**	1.92±0.33
GLU (mmol/L)	13周	9.50±0.64	10.36±1.43	11.10±2.13	9.72±3.41
	26周	9.03±1.66	11.83±3.43*	9.40±2.76	11.76±2.94*
	恢复4周	9.64±1.94	11.64±3.09	7.86±1.09	9.30±0.32
TBIL (umol/L)	13周	6.00±2.16	5.96±0.81	5.60±1.02	5.88±2.89
	26周	3.62±0.97	5.86±2.06**	5.01±1.28*	4.82±1.05
	恢复4周	7.68±2.60	4.72±0.55*	5.34±1.48	6.48±2.18
TG (mmol/L)	13周	1.36±0.58	1.19±0.34	1.08±0.26	1.11±0.57
	26周	1.09±0.34	1.39±0.45	1.35±0.59	1.43±0.73
	恢复4周	1.32±0.75	0.78±0.22	0.95±0.22	1.15±0.33
TP (g/L)	13周	60.36±5.36	59.80±1.54	61.86±3.27	66.64±6.29*
	26周	61.92±4.47	63.10±4.61	66.36±5.51*	63.37±4.66
	恢复4周	63.56±3.31	65.06±3.44	64.84±1.42	62.36±3.69
UREA (mmol/L)	13周	6.80±1.42	7.08±0.74	7.76±1.03	6.88±0.75
	26周	7.16±1.06	7.78±1.14	8.00±1.31	8.16±1.80
	恢复4周	7.60±3.47	8.64±1.56	6.86±0.93	9.48±6.07

表5 原花青素对雌鼠脏器系数的影响(g/100g bw)  
Table 5 Effect of GSPE on relative organ weights of female rats(g/100g bw)

脏器	时间	正常对照组	原花青素		
			高剂量组	中剂量组	低剂量组
心	13周	0.346±0.027	0.284±0.025	0.323±0.027	0.312±0.012
	26周	0.338±0.021	0.339±0.026	0.351±0.043	0.356±0.027
	恢复4周	0.353±0.029	0.330±0.013	0.338±0.036	0.334±0.030
肝	13周	2.957±0.309	3.014±0.294*	2.763±0.158	2.929±0.363
	26周	2.573±0.170	2.747±0.162	2.635±0.143	2.685±0.231
	恢复4周	2.414±0.191	2.523±0.151	2.552±0.102	2.554±0.161
脾	13周	0.174±0.019	0.173±0.026	0.192±0.016	0.195±0.030
	26周	0.183±0.030	0.227±0.052	0.200±0.031	0.210±0.053
	恢复4周	0.185±0.027	0.212±0.011	0.192±0.007	0.198±0.019
肺	13周	0.401±0.038	0.410±0.052	0.389±0.073	0.421±0.033
	26周	0.562±0.160	0.697±0.176*	0.696±0.336*	0.725±0.468**
	恢复4周	0.635±0.064	0.738±0.280	0.654±0.141	0.684±0.212
肾	13周	0.681±0.027	0.673±0.076	0.699±0.056	0.724±0.031
	26周	0.598±0.032	0.694±0.050*	0.678±0.063	0.701±0.067
	恢复4周	0.607±0.037	0.634±0.053	0.664±0.068	0.708±0.180
脑	13周	0.641±0.065	0.602±0.035	0.669±0.039	0.669±0.033
	26周	0.599±0.054	0.674±0.060	0.685±0.070	0.671±0.062
	恢复4周	0.555±0.041	0.671±0.070	0.653±0.039	0.647±0.052
肾上腺	13周	0.031±0.005	0.028±0.006	0.030±0.007	0.028±0.006
	26周	0.021±0.003	0.027±0.004	0.027±0.004	0.025±0.003
	恢复4周	0.023±0.004	0.027±0.004	0.027±0.002	0.023±0.002
胸腺	13周	0.120±0.022	0.120±0.023	0.134±0.030	0.107±0.041
	26周	0.099±0.032	0.113±0.024	0.110±0.038	0.104±0.024
	恢复4周	0.064±0.022	0.092±0.020	0.073±0.012	0.096±0.024
子宫	13周	0.23±0.07	0.25±0.04	0.23±0.09	0.21±0.04
	26周	0.050±0.009	0.049±0.010	0.055±0.007	0.052±0.008
	恢复4周	0.234±0.083	0.269±0.067	0.258±0.064	0.321±0.137
卵巢	13周	0.070±0.020	0.068±0.017	0.070±0.019	0.063±0.010
	26周	0.247±0.116	0.259±0.066	0.228±0.065	0.279±0.095
	恢复4周	0.047±0.010	0.057±0.007	0.065±0.008	0.068±0.037

注:各给药组与对照组比较,\* $p<0.05$ ,\*\* $p<0.01$ 。

### 3 讨论

本研究显示,血液学检测指标在给药不同时期和恢复期、不同剂量组的大鼠红细胞数量及血红蛋白含量或高或低,没有明显的时间和剂量依赖性,而且,某一时间某单一指标的升降无规律可循,故认为该改变没有毒理学意义;血液生化学检测中,原花青素给药13周原花青素中剂量组雌性大鼠碱性磷酸酶水平降低,给药26周原花青素中、低剂量组雄性大鼠白蛋白水平升高,中、低剂量组雄性大鼠ALT、AST水平与对照组比较均明显降低,大剂量组雄性大鼠血糖升高,高、中、低剂量组雄性大鼠总胆红素水平不同程度地升高;停药4周各剂量组雌鼠碱性磷酸酶不同程度的降低,其余各项生化指标与对照组比较均无显著性差异,虽然上述指标出现了统计学上的差别,但是改变均在本实验室正常参考值范围之内,并且这种改变也没有随给药时间延长和给药剂量的增

加而加重;给药26周原花青素高剂量组雌鼠肾系数升高,但肾脏重量在正常范围内,与肾功能相关的各项血生化指标正常,且肾脏病理形态学检测未见异常,故认为上述指标变化无明确毒理学意义。

### 4 结论

原花青素是一大类可从多种植物中提取的、具有多种生物活性的多酚类化合物总称,原花青素最初是从松树皮中提取,后发现肉桂皮、葡萄、可可、苹果、沙棘、柑橘、山楂、钩藤、莲蓬等都是原花青素的来源。在众多植物提取物中,从葡萄籽中提取的原花青素的纯度较高,对其生物活性研究也较多,原花青素在体内具有特别强大的自由基清除效应,对自由基引发的多种疾病有良好的预防和保护作用,故其在药品、化妆品、保健品等领域具有广泛的研发前景。但在其毒性研究方面国内外做的并不多,谢文利等<sup>[14]</sup>对纯度为95%的葡萄籽提取物原花青素进行了

急性毒性实验,测定去LD<sub>50</sub>为2.75g/kg,但对其长期应用是否具有毒性、毒性是否可逆以及量-毒关系均未做进一步研究。Ray S等<sup>[15]</sup>对IH636葡萄籽原花青素进行了急毒毒性和长期毒性研究,表明受试动物经口给LD<sub>50</sub>超过5000mg/kg,给予IH636原花青素0、100、250和500mg/(kg·d)6个月长毒结果显示,其对受试动物血液生化学和重要脏器无不良影响。本研究表明,原花青素428.57、214.29、42.86mg/(kg·d)的剂量(相当于人日用剂量的100、50、10倍)给大鼠连续灌胃26周未见明显的毒副作用。停药观察4周,未发现对大鼠产生明显的蓄积毒性反应,该结果与上述报道的原花青素的毒理学研究结果一致,因此认为,葡萄籽原花青素毒性较小,应用安全性较高。

### 参考文献

- [1] Nada Y, Anzai K, Mori A, *et al.* Hydroxyl and superoxide anion radical scavenging activities of natural source antioxidants using the computerized JES-FR30ESR spectrometer system[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1997, 42(1):35-44.
- [2] Vitseva O, Varghese S, Freedman JE. Grape seed and skin extracts inhibit platelet function and release of reactive oxygen intermediates[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46:445-451.
- [3] 尹进, 胡怡秀, 胡余明, 等. 葡萄籽原花青素提取物对小鼠MDA、SOD和GSH-Px的影响[J]. *中国热带医学*, 2007, 7(8):98-100.
- [4] Bayatli F, Akkus D, Kilic E, *et al.* The protective effects of grape seed extract on MDA, AOPP, apoptosis and eNOS expression in testicular torsion: an experimental study[J]. *World J Urol*, 2013, 31(3):615-622.
- [5] Tyagi A, Raina K, Gangar S, *et al.* Differential effect of grape seed extract against human non-small-cell lung cancer cells: The role of reactive oxygen species and apoptosis induction[J]. *Nutr Cancer*, 2013, 65(S1):44-53.
- [6] Charradi K, Elkahoui S, Karkouch I, *et al.* Grape seed and skin extract alleviates high-fat diet-induced renal lipotoxicity and prevents copper depletion in rat. [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2013, 38(3):259-267.
- [7] 刘相菊, 高海青, 邱洁, 等. 葡萄籽原花青素对兔动脉粥样硬化氧化应激的影响[J]. *山东大学学报:医学版*, 2010, 48(8):25-31.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 药物非临床研究质量管理规范[S]. 2003.
- [9] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物急性毒性实验技术指导原则课题组. G PT 2-1. 中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则[S]. 2005.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物长期毒性实验技术指导原则课题组. G PT 3-1. 中药天然药物长期毒性研究技术指导原则[S]. 2005.
- [11] 中药及保健品研究开发技术指南[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2001.
- [12] 朱忠勇. 实用医学检验学[M]. 北京:人民军医出版社, 1992.
- [13] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社, 2002:226.
- [14] 谢文利, 孙静, 赵艳威, 等. 原花青素的降血糖作用及急性毒性研究[J]. *中草药*, 2009, 40(10):1615-1616.
- [15] Ray S, Bagchi D, Lim PM, *et al.* Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract [J]. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 2001, 109(3-4):165-197.
- (上接第316页)
- 猴桃果实后熟软化的影响[J]. *园艺学报*, 2003, 28(5):399-402.
- [9] 樊秀彩, 张继澍. 1-甲基环丙烯对采后猕猴桃果实生理效应的影响[J]. *园艺学报*, 2001, 28(5):399-402.
- [10] WILLS RBH, KU VVV. Use of 1-MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes[J]. *Postharvest Bio Techno*, 2002, 26:85-90.
- [11] 孟祥春, 凡超, 张爱玉, 等. 不同品种番木瓜果实后熟及贮藏特性的比较研究[J]. *保鲜与加工*, 2010, 10(4):21-24.
- [12] 陈昆松, 于梁, 周山涛. 鸭梨果实气调贮藏过程CO<sub>2</sub>伤害机理初探[J]. *中国农业科学*, 1991, 24(5):83-88.
- [13] 陈嘉, 冯志宏, 赵迎丽, 等. 不同SO<sub>2</sub>保鲜剂对先锋甜樱桃采后保鲜效果的研究[J]. *保鲜与加工*, 2013, 13(3):17-19
- [14] 王贵禧, 宗亦臣, 梁丽松, 等. 桃综合贮藏保鲜技术研究 I 采收成熟度及采前处理对贮藏效果的影响[J]. *林业科学研究*, 1998, 11(1):30-33.
- [15] 冯志宏, 赵迎丽, 闫根柱, 等. 变动气调贮藏对大久保桃果实冷敏感性及其贮藏品质的影响[J]. *园艺学报*, 2010, 37(2):207-212.
- [16] 陈贵, 胡文玉, 谢甫缙, 等. 提取植物体内MDA的溶剂及MDA作为衰老指标的探讨[J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(1):44-46.
- [17] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. *植物生理学通讯*, 1991(2):84-90.
- [18] 中国科学院植物研究所鸭梨黑心病防治小组. 酚类物质的酶促褐变[J]. *植物学报*, 1974, 16(3):235-242.
- [19] Mager A, Harel M. Polyphenol oxidases in plants[J]. *Phytochemistry*, 1979(8):193-215.
- [20] 鞠志国, 朱广廉, 曹宗巽. 莱阳茘梨果肉褐变与多酚氧化酶及酚类物质区域化分布的关系[J]. *植物生理学报*, 1988, 14(4):256-361.
- [21] 常军, 张平. 1-MCP对青州蜜桃贮藏生理的影响[J]. *北方果树*, 2003(6):4-6
- [22] 王文辉, 孙希生, 李志强, 等. 1-MCP对梨采后某些生理生化指标的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40(2):175-177.