

和辉胶囊的毒理学安全性评价

肖云峰¹, 李文妍², 马睿婷³, 乔俊缠⁴

(1. 内蒙古医科大学新药安全评价研究中心, 内蒙古呼和浩特 010110) (2. 内蒙古自治区人民医院药学处, 内蒙古呼和浩特 010017) (3. 内蒙古医科大学附属医院, 内蒙古呼和浩特 010000) (4. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古呼和浩特 010110)

摘要: 本研究评价了保健食品和辉胶囊的食用安全性。依据国家卫生和计划生育委员会《保健食品检验与评价技术规范》(2003年版)和《食品安全性毒理学评价程序》(GB 15193.1-2014), 开展大鼠急性毒性试验、遗传毒性试验(小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验、Ames 试验)和大鼠 30 d 喂养试验, 对和辉胶囊进行毒理学研究, 观察其有无毒性反应。结果表明, 急性毒性试验中, 雌、雄大鼠对和辉胶囊的最大耐受剂量(MTD)均大于 15.0 g/kg·bw, 和辉胶囊属无毒级; 小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验、Ames 试验三项结果均为阴性, 和辉胶囊无遗传毒性; 大鼠 30 d 喂养试验中, 和辉胶囊试验剂量在 1.20 g/kg·bw~4.80 g/kg·bw 范围内(最高剂量相当于人体推荐用量的 100 倍), 大鼠的生长发育、血液学、血液生化学及病理学方面各项相关指标的检验均未发现明显不良影响。说明和辉胶囊无急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性, 具有较高的食用安全性。

关键词: 和辉胶囊; 毒理学评价; 急性毒性; 微核; 精子畸形; Ames 试验

文章编号: 1673-9078(2018)06-274-281

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.6.038

Toxicological Safety Evaluation of Hehui Capsule

XIAO Yun-feng¹, LI Wen-yan², MA Rui-ting³, QIAO Jun-chan⁴

(1.Center for New Drug Safety Evaluation and Research of Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia, Hohhot 010110, China)(2.Inner Mongolia People's Hospital, Inner Mongolia, Hohhot 010017, China)(3.Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia, Hohhot 010017, China)(4.Pharmacy College of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

Abstract: This study evaluated the edible safety of health food Hehui capsule. According to the National Health and Family Planning Commission's <Technical Specification for Health Food Inspection and Evaluation> (2003 edition) and <Food Safety Toxicology Evaluation Procedure > (GB15193.1-2014), the rat acute toxicity test, genotoxicity test (micronucleus test of bone marrow cells, sperm abnormality test and Ames test in mice) and feeding test of 30 days in rats were carried out to observe if there was toxic reaction. The results showed that the maximum tolerated dose (MTD) of male and female rats to Hehui capsule was higher than 15.0 g/kg·bw in acute toxicity test, so the Hehui capsule was nontoxic; The results of micronucleus test of bone marrow cells, sperm malformation test and Ames test in mice were all negative, Hehui capsule had no genotoxicity; In the 30-day feeding test of rats, the dose of Hehui capsule was within the range of 1.20 g/kg·bw ~ 4.80 g/kg·bw (the maximum dose was equal to 100 times the recommended dose of the human body). There were no significant adverse effects on the test of relevant indicators in the growth, development, hematology, blood biochemistry and pathology of rats. It showed that Hehui capsule had no acute toxicity, genetic toxicity and subacute toxicity, and had high food safety.

Key words: Hehui capsule; toxicological evaluation; acute toxicity; micronucleus; sperm abnormality; Ames test

近年来, 我国动脉粥样硬化引起的心脑血管疾病

收稿日期: 2017-12-18

基金项目: 内蒙古自治区青年科技英才项目 (NJYT-17-B29); 内蒙古自治区卫生和计划生育委员会医疗卫生科研计划项目 (201702059); 内蒙古医科大学科技百万工程项目 (YKD2016KJBW013); 内蒙古医科大学博士启动基金项目 (YKD2017BQ001)

作者简介: 肖云峰 (1983-), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 毒理学、心血管药理学

通讯作者: 乔俊缠 (1961-), 男, 教授, 硕士生导师

发生率显著升高, 而其最重要的诱发因素为高脂血症^[1]。高脂血症, 是指脂肪代谢或运转异常使血浆中一种或多种脂质浓度超出正常范围的而诱发的一系列疾病^[2], 即为古籍中常述之为“膏”的病症表现。《黄帝内经灵枢集注》记载: 中焦之气, 蒸津液化, 其精微溢于外则皮肉膏肥, 余于内则清育丰满^[3]。研究发现, 高脂血症会导致机体氧自由基增加, 抗氧化能力下降, 脂质过氧化作用增强^[4]; 临床主要表现为血管硬化、血浆或血清浑浊、血管某部位形成斑块等。目前, 临

床常使用他汀类药物治疗高血脂症,但需长期服用,副作用较多。因此,研究具有辅助调节血脂功能的保健食品日益受到关注。

和辉胶囊以丹参、葶苈和沙棘为主要原料,是一种具有辅助降脂功能的保健食品。丹参祛瘀止痛、活血通经、清心除烦。《本经》记载:丹参主心腹邪气,寒热积聚;破癥除瘕,止烦满,益气;临床主要用于冠心病以及血栓闭塞性脉管炎等疾病的治疗^[5,6]。葶苈温中散寒,下气止痛。《本草纲目》记载:葶苈辛热,入阳明经散浮热;临床用于脘腹冷痛、呕吐、泄泻以及冠心病等疾病的治疗^[7,8]。沙棘能消食化滞,活血散瘀。《四部医典》记载:沙棘健脾养胃、破瘀治血;临床用于消化不良、食积腹痛以及跌扑瘀肿等疾病的治疗^[9-11]。组方后发现,和辉胶囊不仅能够改善血脂异常、脂肪肝和各种肥胖相关的症状,而且对血脂异常所引发的高血压、糖尿病具有良好的调节作用。本文就和辉胶囊的食用安全问题,进行毒理学研究,报告如下。

1 材料与方法

1.1 受试物

和辉胶囊,内容物为黄棕色颗粒和粉末(内蒙古谨康医药科技有限公司,批号 20101014),基本组方为丹参、葶苈和沙棘等药食同源的物品;粒重 0.32 g,人体推荐用量为 3 次/d, 3 粒/次,常温保存。

1.2 实验动物及饲养环境

SD 大鼠,清洁级,由第四军医大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证编号:SCXK(军)2007-007。

昆明种小鼠,清洁级,由第四军医大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证编号:SCXK(军)2007-007。全部实验均于陕西省中医医院/陕西省疾病预防控制中心开展,实验动物使用许可证编号:SYXK(陕)2007-004。

1.3 主要仪器与试剂

全自动生化分析仪,型号 OLYMPUS AU400;全自动血细胞计数仪,型号 HEMAVET950FS;电子天平,型号 YB1201/0.1 g;电子天平,型号 DT200A/0.01 g;电子天平,型号 BS323S320/0.001 g;生物显微镜,型号 OLYMPUS41。

1.4 主要试剂

复方环磷酰胺片,天津金世制药有限公司;阿的平, Sigma 公司;注射用盐酸柔红霉素,浙江海正药业股份有限公司;叠氮化钠, Sigma 公司; 2-氨基苄, Sigma 公司;丝裂霉素 C, Sigma 公司; 1,8-二羟基蒽醌, Sigma 公司。

1.5 试验方法

1.5.1 大鼠急性经口毒性试验^[12]

选取 SD 大鼠 20 只,雌、雄各半,体重 180~220 g,于试验前隔夜禁食 12 h。将受试物按最大耐受剂量设计为 15.0 g/kg·bw,试验时称取样品 50.0 g 加蒸馏水至 100 mL 制成混悬液备用,以 1.0 mL/100 g·bw 的灌胃剂量,给予大鼠灌胃三次(间隔 4 h)。观察其饮食情况、活动情况、中毒症状及死亡现象等,连续 14 d。按急性毒性剂量分级标准评价受试物的急性毒性强弱。

1.5.2 遗传毒性试验^[13-15]

1.5.2.1 小鼠骨髓细胞微核试验

选取昆明种小鼠 50 只,雌、雄各半,体重 25~30 g,采用数字随机法分为 5 组,每组 10 只。将受试物设 3 个剂量组,分别为 10.0 g/kg·bw、5.0 g/kg·bw、2.5 g/kg·bw,同时设阴性对照组(蒸馏水)和阳性对照组(环磷酰胺 40 mg/kg·bw)。将受试物 10.0 g、5.0 g、2.5 g 各加蒸馏水至 20 mL 分别配成 50.0%、25.0%、12.5%的混悬液。以 0.2 mL/10 g·bw 的灌胃剂量,给予小鼠灌胃两次(间隔 24 h)。第二次灌胃 6 h 后,颈椎脱臼处死小鼠,取其股骨骨髓用小牛血清稀释涂片,甲醇固定, Giemsa 染色。在光学显微镜下,每只小鼠计数 1000 个嗜多染红细胞(PCE),观察含有微核的嗜多染红细胞数,微核率以千分率表示;同时计数 200 个嗜多染红细胞,计算嗜多染红细胞与成熟红细胞的比值(PCE/NCE)。采用卡方检验统计处理结果,若试验组的微核率比阴性对照组高,并有明显的剂量-反应关系和统计学意义,则为阳性结果。

1.5.2.2 小鼠精子畸形试验

选取昆明种小鼠 50 只,雄性,体重 25~35 g,数字随机法分为 5 组,每组 10 只。将受试物设 3 个剂量组,分别为 10.0 g/kg·bw、5.0 g/kg·bw、2.5 g/kg·bw,同时设阴性对照组(蒸馏水)和阳性对照组(环磷酰胺 40 mg/kg·bw)。将受试物 10.0 g、5.0 g、2.5 g 各加蒸馏水至 20 mL 分别配成 50.0%、25.0%、12.5%的混悬液。每天以 0.2 mL/10 g·bw 的灌胃剂量,给予小鼠灌胃一次,连续 5 d。于首次给受试物后的第 35 d,颈椎脱臼处死小鼠,取其双侧附睾的精子于生理盐水稀释液涂片,甲醇固定,伊红染色。在光学显微镜下,

每只小鼠计数完整精子 1000 个, 计算精子畸形率。采用 Wilcoxon 秩和检验统计处理结果, 若试验组的精子畸形率比阴性对照组增高, 并有明显的剂量-反应关系和统计学意义, 则为阳性结果。

1.5.2.3 Ames 试验

将受试物设计 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 五个剂量组。称取受试物 1.0 g 加蒸馏水至 20 mL 配成 5% 浓度的混悬液 (高剂量), 高压灭菌 (0.103 MPa, 20 min) 后使用, 依次加无菌水 5 倍稀释为其它各剂量的混悬液备用。另设自然回变对照组、阴性对照组 (蒸馏水) 和阳性对照组 (环磷酰胺)。用 Ames 试验标准菌株 TA97、TA98、TA100 和 TA102, 在加与不加肝 S-9 混合液条件下, 分别对受试物做平板掺入法 Ames 试验。各菌株每剂量做三个平行皿, 每皿加菌加样各 0.1 mL, 整个试验重复二次, 培养 48 h 后, 记录各皿回变菌落数。若受试物的回变菌落数是自然回变菌落数的二倍以上且有剂量-反应关系者, 则为诱变试验阳性。

1.5.3 大鼠 30 d 喂养试验^[16,17]

选取 SD 大鼠 80 只, 雌、雄各半, 体重 51.0~77.3 g, 数字随机法分为 4 组, 每组 20 只。受试物设 3 个剂量组, 分别为 4.80 g/kg·bw (相当于人体推荐用量的 100 倍)、2.40 g/kg·bw 和 1.20 g/kg·bw, 另设一个阴性对照组 (蒸馏水)。将受试物 48 g、24 g 和 12 g 各加蒸馏水至 100 mL 分别配成 48%、24% 和 12% 的混悬液备用, 各组均以 1.0 mL/100 g·bw 灌胃剂量 (阴性对照组灌胃等容量蒸馏水) 每天给予小鼠灌胃一次, 连续 30 d。小鼠自由进食和饮水, 每天观察并记录动物的一般表现 (包括外表、体形、行动、呼吸、被毛、鼻、口腔、眼、耳、生殖器、尿、粪便及其它异常),

每周称体重及进食量, 最后计算食物利用率。试验结束时, 摘眼球取血, 用全自动生化分析仪测定血清生化指标 (血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数和白细胞分类计数等)。然后将试验动物脱颈椎处死, 进行大体解剖, 取肝、肾、脾、睾丸等脏器称重, 观察有无异常, 并将阴性对照组和高剂量组动物的肝、肾、脾、胃肠、睾丸 (卵巢) 固定, 进行组织病理学检查。

1.5.4 统计学方法^[18]

试验数据应用 SPSS 统计软件进行单因素方差分析。在统计分析时, 先对数据进行方差齐性检验, 若方差齐, 采用单因素方差分析进行总体比较, 发现差异再用 Dunnett 检验进行多个剂量组与对照组均数间的两两比较。若方差不齐则对数据进行适当的变量转换, 满足方差齐性检验后, 用转换后的数据进行统计; 若转换后的数据仍未达到方差齐要求, 改用秩和检验进行统计分析。

2 实验结果

2.1 大鼠急性毒性试验

以受试物最大剂量 15.0 g/kg·bw 给予大鼠灌胃后, 大鼠饮食活动正常, 生长良好, 未见体重受到影响, 未发现大鼠有明显中毒表现及死亡现象。试验结束解剖大鼠, 大体观察: 肝、肾、脾、胃、肠、心、肺等主要脏器均未见明显异常改变。根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年版) 中急性毒性分级标准, 保健食品和辉胶囊急性毒性属无毒级。结果表明, 相当于人体推荐用量 312.5 倍剂量的和辉胶囊对雌、雄大鼠体重及脏器均无影响, 属无毒级保健食品, 结果见表 1。

表 1 和辉胶囊对急性毒性试验大鼠体重的影响

Table 1 The effect of Hehui capsules on the body weight of rats in acute toxicity test

性别	动物数 /只	剂量 (MTD)/(g/kg·bw)	初始体重/g	第 7 d 体重/g	第 14 d 体重/g	出现中毒症状动物数/只	死亡数/只
雌性	10	15.00	187.90±10.10	227.40±15.90	236.80±15.30	0	0
雄性	10	15.00	203.70±9.40	258.90±20.50	325.00±18.00	0	0

2.2 遗传毒性试验

2.2.1 小鼠骨髓细胞微核试验

与阴性对照组相比, 雌、雄小鼠阳性对照组微核率均明显升高, 具有极显著性差异 ($p<0.01$); 受试物各剂量组微核率与阴性对照组, 无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明, 和辉胶囊在试验剂量 2.5 g/kg·bw~10.0 g/kg·bw 范围内, 小鼠骨髓细胞微核试验结果为阴性。初步认为和辉胶囊无明显致小鼠骨髓细

胞染色体完整性受损及染色体分离作用。

2.2.2 小鼠精子畸形试验

与阴性对照组比较, 阳性对照组小鼠畸形率明显高于阴性对照组, 有极显著性差异 ($p<0.01$); 受试物各剂量组小鼠精子畸形率与阴性对照组比较, 均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明, 和辉胶囊在试验剂量 2.5 g/kg·bw~10.0 g/kg·bw 范围内, 对小鼠精子无明显毒性, 初步认为无明显致小鼠精子畸形作用。结果见表 3。

表2 和辉胶囊对小鼠骨髓细胞微核试验的影响

Table 2 The effect of Hehui capsules on the bone marrow cells of mice in micronucleus test

性别	剂量/(g/kg·bw)	动物数/只	观察嗜多染红细胞数/个	含微核嗜多染红细胞总数/个	微核率/% $\bar{x}\pm s$	PCE/NCE $\bar{x}\pm s$
雌性	阴性对照	5	1000×5	7	1.40±0.50	1.21±0.10
	阳性对照	5	1000×5	127	25.40±2.70**	1.01±0.04
	10.00	5	1000×5	8	1.60±0.90	1.20±0.07
	5.00	5	1000×5	8	1.60±0.50	1.21±0.12
	2.50	5	1000×5	6	1.20±1.30	1.19±0.09
雄性	阴性对照	5	1000×5	8	1.60±0.50	1.20±0.12
	阳性对照	5	1000×5	128	25.60±3.00**	0.96±0.03
	10.00	5	1000×5	6	1.20±0.40	1.18±0.07
	5.00	5	1000×5	8	1.60±0.50	1.19±0.08
	2.50	5	1000×5	6	1.20±1.30	1.18±0.11

注：与阴性对照组比较，** $p<0.01$ 。

表3 和辉胶囊对小鼠精子畸形试验的影响

Table 3 The effect of Hehui capsules on the mouse sperm abnormality test

组别/(g/kg·bw)	动物数/只	观察精子数/个	畸形精子数/个	各类精子畸形数/个					总畸形率/%	
				无钩	香蕉形	无定形	胖头	尾折叠		双头
阴性对照	10	1000×5	114	20	22	72	0	0	0	2.28
阳性对照	10	1000×5	403	95	36	266	0	0	0	8.06**
10.00	10	1000×5	119	25	20	74	0	0	0	2.38
5.00	10	1000×5	115	21	23	71	0	0	0	2.30
2.50	10	1000×5	126	26	24	76	0	0	0	2.52

注：与阴性对照组比较，** $p<0.01$ 。

2.2.3 Ames 试验

与自然回变菌落数相比，受试物各剂量组及阴性对照组各菌株回变菌落数均未超过自然回变菌落数的二倍，而阳性对照组菌落数达到自然回变菌落数的二

倍以上。结果表明，和辉胶囊在试验剂量 8 $\mu\text{g}/\text{皿}$ ~5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 范围内，Ames 试验结果为阴性。未发现和辉胶囊存在诱变作用。结果见表 4。

表4 和辉胶囊对 Ames 试验的影响

Table 4 The effect of Hehui capsules on the Ames test ($\bar{x}\pm s$)

菌株组别	TA97		TA98		TA100		TA102	
	S-9(-)	S-9(+)	S-9(-)	S-9(+)	S-9(-)	S-9(+)	S-9(-)	S-9(+)
阴性对照	144±7	146±14	37±2	37±3	168±12	167±11	269±15	278±9
阳性对照	2721±233	1808±192	2956±144	5808±194	2857±212	2951±298	2169±284	969±62
自然回变	148±22	147±8	38±7	35±2	173±19	161±12	275±23	278±28
5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$	151±12	158±21	33±3	30±2	156±6	167±14	276±24	280±22
1000 $\mu\text{g}/\text{皿}$	150±8	160±10	39±2	38±2	186±6	170±9	273±21	270±11
200 $\mu\text{g}/\text{皿}$	138±10	153±9	34±4	33±1	180±16	172±3	281±9	277±14
40 $\mu\text{g}/\text{皿}$	151±5	140±22	37±7	33±6	174±24	172±22	287±8	282±4
8 $\mu\text{g}/\text{皿}$	142±15	145±14	39±5	38±8	184±4	171±8	266±9	274±4
阿的平	2AF	柔毛霉素	2AF	NaN ₃	2AF	丝裂霉素 C	1,8-二羟基蒽醌	
10 $\mu\text{g}/\text{皿}$	10 $\mu\text{g}/\text{皿}$	6.0 $\mu\text{g}/\text{皿}$	10 $\mu\text{g}/\text{皿}$	1.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$	10 $\mu\text{g}/\text{皿}$	0.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$	50.0 $\mu\text{g}/\text{皿}$	

2.3 30 d 喂养试验

与阴性对照组比较，受试物各剂量组雌、雄鼠各

期体重均无显著性差异 ($p>0.05$)；受试物各剂量组雌、雄大鼠每周进食量、食物利用率及总食物利用率均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明，和辉胶囊长期食用

不会影响大鼠体重、进食，观察期内未发现大鼠出现明显毒作用表现。

2.3.1 对大鼠体重的影响

与阴性对照组相比，受试物各剂量组大鼠给药期间体重均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明，和辉胶囊对大鼠给药期间体重增长无影响。结果见表 5。

表 5 和辉胶囊对大鼠体重的影响

Table 5 The effect of Hehui capsules on the body weight of rats ($\bar{x}\pm s$)

性别	剂量/(g/kg·bw)	始重/g	一周末/g	二周末/g	三周末/g	终重/g
雌性	阴性对照	63.39±8.04	113.67±10.24	149.28±15.32	172.58±14.22	199.16±12.29
	4.80	63.8±8.59	111.9±11.20	152.1±10.05	179.45±7.63	202.01±9.11
	2.40	63.7±8.62	110.00±12.40	147.56±11.60	172.27±10.41	194.31±8.80
	1.20	63.38±8.10	112.43±9.66	151.19±7.80	174.60±8.36	198.38±6.00
雄性	4.80	61.90±8.76	116.18±13.40	168.76±16.55	216.90±20.34	268.07±18.08
	2.40	62.00±8.51	116.97±11.18	172.88±13.03	225.53±15.84	276.00±15.49
	1.20	62.10±8.35	117.18±7.29	172.91±9.01	221.39±12.38	267.34±20.25
	阴性对照	61.90±8.63	119.98±11.80	171.29±18.46	226.78±16.80	285.00±23.66

2.3.2 对大鼠进食量和食物利用率的影响

间食物利用率均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明，和辉胶囊对大鼠给药期间食物利用率无影响。结果见表 7。

2.3.2.1 对大鼠各周进食量的影响

与阴性对照组相比，受试物各剂量组大鼠给药期间各周进食量均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明，和辉胶囊对大鼠各周进食无影响。结果见表 6。

2.3.2.2 对大鼠总食物利用率的影响

与阴性对照组相比，受试物各剂量组大鼠给药期间总食物利用率均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明，和辉胶囊对大鼠给药期间总食物利用率无影响。

2.3.2.2 对大鼠食物利用率的影响

与阴性对照组相比，受试物各剂量组大鼠给药期

表 6 和辉胶囊对大鼠各周进食量的影响

Table 6 The effect of Hehui capsules on the food intake of rats each week ($\bar{x}\pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	第一周/g	第二周/g	第三周/g	第四周/g
雌性	阴性对照	95.17±7.69	101.08±11.09	101.68±8.64	149.04±10.52
	4.80	94.84±6.35	106.26±10.43	109.56±8.79	149.39±16.18
	2.40	91.13±3.85	101.14±9.74	97.34±8.48	144.24±12.48
	1.20	94.12±6.56	102.07±6.87	106.84±8.85	143.21±16.89
雄性	阴性对照	105.01±9.12	119.81±14.27	142.99±11.42	204.18±14.17
	4.80	98.76±6.49	120.82±11.69	135.97±16.83	198.43±14.03
	2.40	98.64±5.04	124.72±4.79	135.42±7.45	194.10±16.19
	1.20	100.54±4.00	120.78±13.22	133.88±15.77	193.91±24.52

表 7 和辉胶囊对大鼠各周食物利用率的影响

Table 7 The effect of Hehui capsules on the weekly food utilization of rats ($\bar{x}\pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	第一周/%	第二周/%	第三周/%	第四周/%
雌性	阴性对照	52.84±1.69	34.91±6.03	23.03±4.27	17.67±3.50
	4.80	50.60±2.54	38.23±5.43	24.56±5.29	14.98±2.25
	2.40	50.60±3.19	37.07±3.19	25.40±6.02	15.17±2.12
	1.20	52.15±2.30	38.14±5.47	21.69±3.99	16.39±2.96
雄性	阴性对照	55.37±2.55	42.38±6.70	38.84±4.82	28.33±5.91
	4.80	54.92±4.46	43.56±2.41	35.57±2.66	25.82±3.69
	2.40	55.74±4.02	44.82±2.36	38.86±3.59	25.78±6.65
	1.20	54.76±3.30	46.48±5.01	36.42±4.97	23.41±3.21

表 8 和辉胶囊对大鼠总食物利用率的影响

Table 8 The effect Hehui capsules on the total food utilization of rats ($\bar{x}\pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	体重总增重/g	总进食量/g	总食物利用率/%
雌性	阴性对照	135.77±10.10	446.97±24.66	30.38±1.55
	4.80	138.12±12.45	460.05±18.32	30.00±2.04
	2.40	130.52±7.35	433.85±15.18	30.10±1.75
	1.20	135.00±7.74	446.24±19.30	30.28±1.88
雄性	阴性对照	223.10±26.09	571.99±34.86	38.96±3.32
	4.80	206.17±12.11	553.98±37.69	37.27±1.75
	2.40	214.00±12.72	552.88±17.36	38.72±2.21
	1.20	205.24±18.97	549.11±41.42	37.39±2.31

2.3.3 对大鼠血常规的影响

与阴性对照组相比, 受试物各剂量组大鼠血常规各指标均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明, 和辉胶

囊对大鼠血液中红细胞、白细胞和血红蛋白的数量变化及形态分布无影响。结果见表 9。

表 9 和辉胶囊对大鼠血常规的影响

Table 9 The effect of Hehui capsules on the blood routine of rats ($\bar{x}\pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	血红蛋白/(g/L)	红细胞计数($10^{12}/L$)	白细胞计数($10^9/L$)
雌性	阴性对照	158.20±20.88	7.08±0.86	10.86±3.54
	4.80	166.40±13.11	7.50±0.53	11.12±2.78
	2.40	163.00±17.55	7.43±0.74	12.06±3.66
	1.20	167.10±9.67	7.60±0.48	10.64±2.96
雄性	阴性对照	164.80±11.04	7.53±0.47	10.62±1.33
	4.80	162.10±11.12	7.41±0.38	9.61±1.77
	2.40	163.30±7.85	7.47±0.35	11.30±1.54
	1.20	154.40±29.87	7.25±0.73	10.83±2.92

2.3.4 对大鼠生化指标的影响

与阴性对照组比较, 雄鼠受试物各剂量组肌酐均有显著性差异 ($p<0.05$), 受试物高剂量组总胆固醇有极显著性差异 ($p<0.01$); 其余受试物各剂量组各项生

化指标均无显著性差异 ($p>0.05$)。结果表明, 雄性雄鼠受试物各剂量组肌酐和高剂量组总胆固醇均低于阴性对照组, 但均在本实验室正常参考值范围内, 故无生物学意义。结果见表 10。

表 10 和辉胶囊对大鼠生化指标的影响

Table 10 The effect of Hehui capsules on the biochemical indicators of rats(1) ($\bar{x}\pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	谷丙转氨酶/(U/L)	谷草转氨酶/(U/L)	白蛋白/(g/L)	总蛋白/(g/L)	白/球
雌性	阴性对照	30.15±5.46	195.40±37.62	34.40±2.42	71.32±4.11	0.94±0.08
	4.80	33.11±8.50	167.80±12.52	34.50±1.40	71.02±3.15	0.94±0.07
	2.40	31.50±12.50	176.70±39.74	34.59±2.39	71.70±4.94	0.95±0.05
	1.20	34.03±7.72	184.80±21.09	34.82±1.14	71.75±2.66	0.96±0.05
雄性	阴性对照	33.91±5.80	198.60±23.66	33.00±1.27	66.61±1.12	1.00±0.07
	4.80	34.18±7.67	206.50±17.92	31.93±1.21	64.38±1.62	0.97±0.05
	2.40	39.87±8.82	222.80±28.40	31.42±2.09	64.97±2.82	0.93±0.10
	1.20	42.39±10.47	204.90±20.20	31.99±2.18	64.90±2.85	0.97±0.08
性别	剂量/(g/kg·bw)	尿素氮/(mmol/L)	肌酐/($\mu\text{mol}/L$)	血糖/(mmol/L)	总胆固醇/(mmol/L)	甘油三酯/(mmol/L)
雌性	阴性对照	6.61±0.72	50.54±2.50	3.44±0.63	2.06±0.35	1.22±0.34
	4.80	6.71±1.06	51.84±4.50	3.63±0.63	1.82±0.27	1.44±0.34

转下页

接上页

	2.40	6.03±0.85	49.38±3.77	3.53±0.29	2.11±0.30	1.18±0.38
	1.20	6.18±0.88	51.02±2.24	3.81±0.36	2.08±0.25	1.19±0.54
	阴性对照	5.08±0.51	47.87±2.94	3.02±0.62	1.62±0.16	1.19±0.40
雄性	4.80	5.42±0.07	44.46±2.69*	3.26±0.57	1.33±0.21*	0.84±0.21
	2.40	5.08±1.03	42.90±1.68**	3.10±0.58	1.55±0.23	0.98±0.35
	1.20	5.07±0.70	44.24±3.86*	3.11±0.44	1.52±0.26	0.96±0.29

注: 与阴性对照组比较, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

2.3.5 病理学大体解剖观察检查

各组大鼠肝脏、肾脏、胃和脾脏的大体检查结果均正常, 病理组织学检查也未见明显的病理改变。

与阴性对照组相比, 受试物各剂量组大鼠脏器重量均无显著性差异 ($p > 0.05$)。结果表明, 和辉胶囊对大鼠脏器重量无影响。结果见表 11。

2.3.5.1 对大鼠脏器重量的影响

表 11 和辉胶囊对大鼠脏器重量的影响

Table 11 The effect of Hehui capsules on the organ weight of rats ($\bar{x} \pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	空腹重/g	肝重/g	肾重/g	脾重/g
雌性	阴性对照	189.33±9.68	6.18±0.70	1.52±0.12	0.50±0.08
	4.80	193.05±7.38	6.62±0.48	1.56±0.08	0.48±0.04
	2.40	186.05±6.36	6.20±0.44	1.53±0.11	0.47±0.09
	1.20	189.48±4.50	6.22±0.41	1.55±0.10	0.45±0.09
雄性	阴性对照	268.61±19.10	8.60±0.84	2.39±0.17	0.72±0.13
	4.80	255.52±14.73	8.16±0.63	2.21±0.20	0.68±0.10
	2.40	259.91±9.59	7.91±0.34	2.24±0.15	0.69±0.11
	1.20	255.94±12.08	7.92±0.58	2.26±0.32	0.61±0.13

2.3.5.2 对大鼠脏器系数的影响

与阴性对照组相比, 受试物各剂量组大鼠脏器系

数均无显著性差异 ($p > 0.05$)。结果表明, 和辉胶囊对大鼠脏器系数无影响。结果见表 12。

表 12 和辉胶囊对大鼠脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 12 The effect for rats of organ coefficient by Hehui capsules ($\bar{x} \pm s$, n=10)

性别	剂量/(g/kg·bw)	肝脏系数/g	肾脏系数/g	脾脏系数/g
雌性	阴性对照	3.26±0.26	0.80±0.04	0.26±0.04
	4.80	3.43±0.22	0.81±0.03	0.25±0.02
	2.40	3.33±0.16	0.82±0.05	0.25±0.04
	1.20	3.28±0.22	0.82±0.05	0.24±0.04
雄性	阴性对照	3.20±0.26	0.89±0.05	0.27±0.04
	4.80	3.19±0.19	0.86±0.05	0.27±0.04
	2.40	3.04±0.10	0.86±0.04	0.27±0.05
	1.20	3.10±0.23	0.88±0.12	0.24±0.05

3 结论

为科学地评价和辉胶囊作为保健食品的安全性, 本次试验中, 对其进行了大鼠急性经口毒性试验、3 项遗传毒性试验和大鼠 30 d 喂养试验。大鼠急性经口毒性试验结果显示和辉胶囊对雌、雄大鼠急性经口最大耐受剂量 (MTD) 均大于 15.0 g/kg·bw, 急性经口毒性属无毒级。Ames 试验采用标准的掺入法, 实验结果显示和辉胶囊受试样品各剂量组的回变菌落数均

未出现超过对照组回变菌落数的 2 倍, 且无剂量-反应关系, Ames 试验结果为阴性, 表明和辉胶囊无致突变作用。小鼠骨髓微核试验和小鼠精子畸变试验的结果皆为阴性, 表明和辉胶囊对哺乳动物体细胞和生殖细胞无致染色体畸变和基因突变的作用。上述 3 项遗传毒性试验采用不同试验方法对和辉胶囊进行了遗传毒性检测, 结果均为阴性, 表明该样品无遗传毒性。大鼠 30 d 喂养试验中, 在 1.20、2.40 和 4.80 g/kg·bw 剂量下(相当于人体推荐量的 25、50 和 100 倍), 连服

1 个月,大鼠一般生理体征、行为、大小便和皮毛等均无异常,各脏器未见明显的功能损害,体重和食物利用率指标正常,血液学和血液生化学指标均无统计学差异,组织病理学检查结果未见特异性病理改变。以上试验表明在本试验条件下口服和辉胶囊无明显毒副作用。

参考文献

- [1] 诸骏仁,高润霖,赵水平,等.中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)[J].中国循环杂志,2016,31(10):937-953
ZHU Jun-ren, GAO Run-lin, ZHAO Shui-ping, et al. Guidance for prevention and treatment of dyslipidemia in chinese adults (revised edition 2016) [J]. Chinese Circulation Journal, 2016, 31(10): 937-953
- [2] Xiao-leiZhang, Yan-fengWu, Yu-shanWang, et al. The protective effects of probiotic-fermented soymilk on high-fat diet-induced hyperlipidemia and liver injury [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 1(30): 220-227
- [3] 张志聪.黄帝内经灵枢集注[M].北京:学苑出版社,2006
ZHANG Zhi-cong. Huangdi Nei Jing Ling Shu episode [M]. Beijing: Xueyuan Publishing House, 2006
- [4] 陈侃,王长谦,范虞琪,等.斑马鱼平台研究七种中药单体的降脂作用[J].生理学报,2017,68(1):55-60
CHEN Kan, WANG Chang-qian, FAN Yu-qi, et al. Zebrafish platform for the study of lipid-lowering effects of seven kinds of traditional Chinese medicine monomer [J]. Acta Physiologica Sinica, 2017, 68(1): 55-60
- [5] 神农氏.神农本草经[M].北京:中医古籍出版社,1982
Shennong. Shennong Herbal Classic [M]. Beijing: Chinese Ancient Books Publishing House, 1982
- [6] 刘薇薇,陈军峰,肖莹,等.丹参中主要活性成分生物合成的研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2016,18(11): 1891-1898
LIU Wei-wei, CHEN Jun-feng, XIAO Ying, et al. Salvia in the main active ingredient biosynthesis research [J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2016, 18(11): 1891-1898
- [7] 李时珍.本草纲目[M].北京:人民卫生出版社,1977
LI Shi-zhen. Compendium of Materia Medica [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1977
- [8] 包雪梅,那生桑,陆景坤.芫荽有效部位群的调血脂研究[J].中国中药杂志,2013,38(6):909-913
BAO Xue-mei, NA Sheng-sang, LU Jing-kun. Study on the regulation of blood lipid in the effective part of the Biba [J]. Chinese Journal of Medicine, 2013, 38(6): 909-913
- [9] 宇妥·元丹贡布.四部医典[M].北京:人民卫生出版社,1981
YU Tuo. Yuan-Dangongbu four Medical Code [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1981
- [10] 郭凤霞,曾阳,李锦萍,等.沙棘多糖对 α -葡萄糖苷酶活性及正常小鼠血糖的影响[J].药学报,2013,48(4):604-608
GUO Feng-xia, ZENG Yang, LI Jin-ping, et al. Effect of Seabuckthorn polysaccharide on α -glucosidase activity and blood glucose in normal mice [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 48(4): 604-608
- [11] GB 15193.1-2014,食品安全国家标准食品安全性毒理学评价程序[S]
GB 15193.1-2014, National Food Safety Standard Food Safety Toxicology Evaluation Procedure [S]
- [12] 王雨,吴克枫,俞红,等.野生水芹的毒理学安全性评价[J].食品研究与开发,2016,37(22):196-201
WANG Yu, WU Ke-feng, YU Hong, et al. Toxicological security evaluation of Oenanthe javanica [J]. Food Research and Development, 2016, 37(22): 196-201
- [13] 曲琳,尹幸念,樊树理,等.马铃薯提取液毒理学安全性评价[J].毒理学杂志,2016,30(2):166-168
QU Lin, YIN Xing-nian, FAN Shu-li, et al. Toxicology evaluation of potato extract [J]. Chinese Journal of Toxicology, 2016, 30(2): 166-168
- [14] 吴军林,张文,吴清平.舒睡片的毒理学安全性评价[J].毒理学杂志,2016,30(4):317-319
WU Jun-lin, ZHANG Wen, WU Qing-ping. Toxicological safety Shushui pieces evaluation [J]. Toxicology, 2016, 30(4): 317-319
- [15] 胡成云,汪建良,徐剑,等.5%D-柠檬烯水剂毒理学安全性评价[J].毒理学杂志,2017,31(2):155-158
HU Cheng-yun, WANG Jian-liang, XU Jian, et al. Toxicological safety evaluation of 5% D-limonene aqueous solution [J]. Journal of Toxicology, 2017, 31(2): 155-158
- [16] 严婷,钟义红,张成香,等.松灵胶囊的毒理学安全性评价[J].江苏预防医学,2017,28(1):29-31,38
YAN Ting, ZHONG Yi-hong, ZHANG Cheng-xiang, et al. Toxicological safely evaluation of pine needle and ganoderma lucidum extract [J]. Jiangsu J Prev Med, 2017, 28(1): 29-31, 38
- [17] 郭婕,谢玮,颜燕,等.灵芝孢子粉富硒酵母制剂的毒理学安全性评价[J].毒理学杂志,2017,31(6):491-494
GUO Jie, XIE Wei, YAN Yan, et al. Ganoderma lucidum spore powder selenium yeast preparation toxicological safety evaluation [J]. Toxicology, 2017, 31(6): 491-494
- [18] 吕建军,霍桂桃,王三龙,等.统计学在临床前药物毒理学安

全性评价中的应用[J].中国药事,2016,30(6):550-555
LV Jian-jun, HUO Gui-tao, WANG San-long, et al.
Application of the statistical methods in toxicology studies of

preclinical safety evaluation of drugs [J]. Chinese Medicine,
2016, 30(6): 550-55

