

# 黄芪茎叶的安全性毒理学评价

李慧, 李静辉, 崔莹, 马德志, 张可勇, 刘吉成\*

(齐齐哈尔医学院科研处, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

**摘要:** 为评价黄芪茎叶的急性毒性、遗传毒性及亚慢性毒性, 为黄芪茎叶安全应用提供实验依据, 采用国家标准食品安全性毒理学评价程序和方法标准对黄芪茎叶进行急性经口毒性试验、三项遗传毒性试验及 90 d 亚慢性毒性试验研究。发现雌雄大小鼠急性经口 LD<sub>50</sub>>250.00 g/kg BW, 属实际无毒级。三项遗传毒性试验结果显示检测结果均为阴性, 未见致突变作用。大鼠 90 d 经口毒性试验显示, 试验期间各组动物生长发育良好, 未见中毒表现和体征, 大鼠眼部检查、体重、增重、进食量、食物利用率、血液学及血生化、尿常规、脏器重量及脏体比等指标均未见损害性影响, 解剖及组织学观察也未见明显与试验因素有关的病理组织学变化, 未观察到有害作用剂量为 15.00 g/kg BW。结果表明黄芪茎叶在本条件剂量下安全无毒。

**关键词:** 黄芪茎叶; 安全性评价; 急性毒性试验; 遗传毒性试验; 亚慢性毒性试验

文章编号: 1673-9078(2021)10-332-339

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0036

## Evaluation of Acute Oral Toxicity, Genetic Toxicity, and Subchronic Toxicity of *Astragalus* Stem and Leaf

LI Hui, LI Jing-hui, CUI Ying, MA De-zhi, ZHANG Ke-yong, LIU Ji-cheng\*

(Department of Science and Technology, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China)

**Abstract:** To provide scientific bases for the safe application of *Astragalus* stem and leaf, acute oral toxicity, genetic toxicity, and 90-day subchronic toxicity tests were performed, following standard procedures for toxicological safety evaluation of food, in mice and rats. The acute oral LD<sub>50</sub> of male and female mice and rats was more than 250.00 g/kg BW, indicating that the stem and leaf of *Astragalus* are non-toxic. Results obtained from all the three genotoxicity tests indicate that the stem and leaf of *Astragalus* are non-toxic; in addition, mutagenicity was not detected. In the 90-day oral toxicity test, all the rats in each treatment group grew well, and no symptoms of poisoning were observed. There was no significant difference in eye performance, body weight, weight gain, food intake, food utilization efficiency, hematology, blood biochemistry, urine chemistry, organ weight, and organ/body weight ratio and no obvious histopathological changes were found. A dose of 15.00 g/kg BW was found to have no harmful effects on the experimental animals. Results showed the doses of *Astragalus* stem and leaf used in this study to safe and non-toxic. The findings of this research will provide toxicological data, which can indicate the safe consumption of this product.

**Key words:** *Astragalus*; stem and leaf; safety assessment; acute oral toxicity test; genotoxicity test; subchronic toxicity test

引文格式:

李慧,李静辉,崔莹,等.黄芪茎叶的安全性毒理学评价[J].现代食品科技,2021,37(10):332-339

LI Hui, LI Jing-hui, CUI Ying, et al. Evaluation of acute oral toxicity, genetic toxicity, and subchronic toxicity of *Astragalus* stem and leaf [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 332-339

黄芪是豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao]或膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.)

收稿日期: 2021-01-11

基金项目: 齐齐哈尔市科学技术计划项目 (SFGG-201928)

作者简介: 李慧 (1985-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 中药资源学, E-mail: lihui314220@126.com

通讯作者: 刘吉成 (1958-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 药理学, E-mail: qyylu@126.com

Bge.]的干燥根, 在《本草纲目》中将其列为上品。传统中医学认为: 黄芪味甘, 性微温, 归肺、脾经; 具有补气升阳, 利水消肿, 敛疮生肌的功能; 用于气虚乏力, 中气下陷, 血虚萎黄等症<sup>[1]</sup>。现代药理学研究显示, 黄芪中含黄芪多糖、皂苷类、黄酮类和多种氨基酸等主要成分, 其药理作用表现为提高免疫力, 抗氧化、抗辐射和抗癌, 保护心脑血管, 提高记忆力, 抗菌和抗病毒, 降低血糖、血脂和减少糖尿病并发症等作用<sup>[2]</sup>。除药用外, 黄芪常被用作食补的最佳原料

之一,清代名医黄宫绣的《本草求真》中称其为“补气诸药之最”,具有极大的食用价值<sup>[3]</sup>。国家卫健委发布了将黄芪按照传统既是食品又是中药材的物质管理试点工作通知,研究适时将其纳入食药物质目录管理。

黄芪茎叶是黄芪的地上嫩茎和叶部分,应用历史悠久,被用于药用和食用两个方面。黄芪茎叶的药用功效记载已有近 2000 年,始见于《名医别录》,即“茎叶主治疗渴及筋挛,痈肿,疽疮”,后有《本草纲目》和《千金翼方》中均有记载。黄芪茎叶与黄芪根化学成分相似,只是含量有所不同<sup>[4,5]</sup>。部分成分甚至高于根中的含量,杨桂明等<sup>[6]</sup>研究显示果盛期叶中的黄芪总皂苷含量高于根中,且此时期采收地上部分对黄芪根产量无明显影响。黄芪茎叶中含有黄芪甲苷,且含量高于根部<sup>[7]</sup>,具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、降糖和改善心血管疾病等药理作用<sup>[8]</sup>;含有黄芪多糖,含量稍低于根部<sup>[9]</sup>,具有增强免疫力,提高免疫细胞的免疫活性,且具有抗肿瘤、调节血糖、保护心血管、保肝护肾等作用<sup>[10]</sup>;含有较高含量的总黄酮,并测定了其抗氧化活性<sup>[11]</sup>,除此之外,总黄酮还具有抗肿瘤、抗突变和抗损伤的作用<sup>[12-14]</sup>。其食用历史记载也有 600 多年,始见于《救荒本草》(公元 1406 年),其中黄芪茎叶食用记载为“采嫩苗叶焯熟,换水浸淘洗去苦味,油盐调食,药中补益呼为羊肉”。明代鲍山所汇辑而成的《野菜博录》中记载:“黄芪茎叶食法,采嫩苗叶焯熟,换水浸淘去苦味,油盐调食。”《本草纲目》校点本上册第 2 版中记载:“黄芪无毒,属药用植物,其茎叶花也可食用。”近年来,我国黑龙江大兴安岭、内蒙古等地区均有食用黄芪茎叶的历史,已将其作为健康食品、代茶饮等食品的重要原料,并展现出了较好的市场前景。

目前关于黄芪茎叶的研究主要在有效成分及其药理作用方面,但作为食品原料广泛应用的毒理学研究不够深入,相关证据缺乏。而将黄芪茎叶作为食品原料或其提取物进行加工并研发出相关保健食品,可有效增加黄芪的附加值,产生较大的经济和社会价值。因此,开展其毒理学安全性评价试验尤为重要。鉴于国内黄芪茎叶毒理学数据缺乏的现状,对其开展相关试验,为深度挖掘黄芪茎叶原料的应用提供数据基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

试验样品采集自黑龙江齐齐哈尔医学院黄芪种植基地,样品呈淡绿色或黄绿色,叶片为羽状复叶。样品处理工艺为:利用热回流提取浓缩回收装置对干黄

芪茎叶原料进行提取,按照料液比为 1:15 的比例,加水浸泡 30 min,在微沸状态下提取 2 次,每次 2.5 h,合并提取液,过滤;滤过的残渣按照料液比为 1:12 的比例,加入 75%的乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液,过滤。将水提和醇提的滤液合并,在 70~75 °C,负压 0.04 Mpa 的条件下进行浓缩,浓缩液利用喷雾干燥塔进行干燥成粉末状,干燥设置瞬时温度 180 °C,流速 2 L/h。1 g 提取物粉相当于 12.50 g 样品原料。

### 1.2 试验动物

试验过程中使用的 SPF 级 ICR 小鼠和 SD 大鼠,均来自于浙江省实验动物中心。小鼠体重 20±2 g,大鼠 200±20 g,均雌雄各半用于急性经口毒性试验,生产许可证号为 SCXK(浙)2014-0001,使用许可证号为 SYXK(浙)2014-0008;小鼠体重 25~30 g,用于遗传毒性试验,生产许可证号为 SCXK(浙)2014-0001,使用许可证号为 SYXK(浙)2014-0008;大鼠 70±10 g,雌雄各半用于 90 d 经口毒性试验,生产许可证号为 SCXK(浙)2014-0001,使用许可证号为 SYXK(浙)2016-0022。室温 20~25 °C,相对湿度为 40%~70%。

### 1.3 仪器与试剂

试验所用仪器,主要有罗氏 C311 全自动生化分析仪、全自动血细胞分析仪,江西特康科技有限公司;OLYMPUSBH-2 型显微镜、电子天平、解剖器械、超净工作台。

主要试剂包括环磷酸胺、秋水仙素、丝裂霉素、2-乙酰氨基苄、叠氮钠以及 1,8-二羟基蒽醌等。

### 1.4 试验方法

#### 1.4.1 大、小鼠急性经口毒性试验

选取 ICR 小鼠和 SD 大鼠各 20 只,雌雄各半,按限量法设 20.00 g/kg BW(相当于干制黄芪茎叶原料 250.00 g/kg BW)一个剂量组。灌胃前禁食 6 h,小鼠按 20 mL/kg 灌胃 2 次,每次间隔 4 h;大鼠按 10 mL/kg 灌胃 3 次,每次间隔 4 h。小、大鼠末次灌胃分别 2 h 和 3 h 后恢复进食。记录鼠的一般状况、中毒表现和死亡情况。观察 14 d,记录试验初期及末期动物体重,结束后处死动物,进行大体解剖检查,记录大体病理学变化。

#### 1.4.2 遗传毒性试验

##### 1.4.2.1 细菌回复突变试验

选用 TA<sub>97a</sub>、TA<sub>98</sub>、TA<sub>100</sub>、TA<sub>102</sub> 作为试验菌株,以无菌 DMSO 将提取物粉稀释至 8、40、200、1000

和 5000  $\mu\text{g}/\text{皿}$  的梯度, 外加空白组、溶剂组和阴性对照组, 在加和不加  $\text{S}_0$  的条件下进行测试, 直接测定培养基上各菌株的回变菌落数。

#### 1.4.2.2 哺乳动物红细胞微核试验

选取小鼠 50 只, 分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。试验设 2.50、5.00 和 10.00  $\text{g}/\text{kg BW}$  (相当于干制黄芪茎叶原料 31.25、62.50、125.00  $\text{g}/\text{kg BW}$ ) 三个不同剂量组, 另设一个阳性对照组 (环磷酰胺 40  $\text{mg}/\text{kg BW}$ ) 和一个阴性对照组 (1%羟甲基纤维素钠)。小鼠按 20  $\text{mL}/\text{kg BW}$  经口灌胃, 共计 2 次, 间隔 24 h。灌胃结束 6 h 后颈椎脱臼处死, 取胸骨髓制成骨髓片, 甲醇固定, Giemsa 染色。观察每个动物的红细胞、嗜多染红细胞并计数有微核嗜多染红细胞率, 采用 Poisson 分析法对剂量组与阴性对照组进行比较。

#### 1.4.2.3 小鼠精母细胞染色体畸变试验

选用雄性小鼠 25 只, 分为 5 组, 每组 5 只。三个剂量组、阳性对照和阴性对照组、灌胃容量均与哺乳动物红细胞微核试验设置相同, 连续灌胃 5 d, 每天 1 次。于第一次灌胃后的第 13 d 处死小鼠, 处死前 5 h 腹腔注射秋水仙素 6  $\text{mg}/\text{kg BW}$ 。取两侧睾丸曲细精管中滤液进行滴片、染色和镜检。每组观察 500 个中期分裂细胞, 计算各组不同类型的染色体结构畸变频率、常染色体单价体以及性染色体单价体等进行统计分析。

#### 1.4.3 90 d 喂养试验

选择 SPF 级健康大鼠 100 只, 雌雄各半, 每笼饲养 2 只大鼠。以人体推荐量的 75、150、300 倍设低、中、高 3 个剂量组 (相当于原料 3.75、7.50、15.00  $\text{g}/\text{kg BW}$ ), 另设 1 个阴性对照组和 2 个卫星组。试验组每组 20 只鼠, 卫星组每组 10 只鼠, 雌雄各半。将黄芪茎叶提取物按体重 8% 折算掺入饲料中喂养, 大鼠自由进食, 每周记录大鼠体重变化和进食量。试验中期卫星组大鼠采尿测尿常规后禁食过夜, 次日按 0.50  $\text{mL}/100 \text{ g BW}$  腹腔注射 8% 水合氯醛麻醉, 按相关标准处死, 测定血液学与血生化指标值。试验末期按照中期卫星组大鼠处理方法采血处死, 每只大鼠取脑、心脏、肝脏、脾脏、睾丸、卵巢等器官称重, 计算脏体比并进行病理组织学观察。

#### 1.4.4 统计分析

利用 SPSS 软件进行数据分析, 首先进行方差齐性检验, 方差齐则采用单因素方差分析, 方差不齐进行数据转换或秩和检验进行分析。以  $p < 0.05$  作为是否具有统计学意义的标准。

## 2 结果与讨论

### 2.1 急性经口毒性试验

在试验期间, 大、小鼠均无明显中毒现象, 无死亡情况, 大体解剖各脏器均无病理性改变。干制黄芪茎叶提取物对大、小鼠经口  $\text{LD}_{50}$  均大于 20.00  $\text{g}/\text{kg BW}$  (相当于干制黄芪茎叶原料 250.00  $\text{g}/\text{kg BW}$ ), 属实际无毒级 (表 1)。这与丁伯良等<sup>[15]</sup>的研究结果不同, 该研究利用膜荚黄芪茎叶粉进行小鼠毒性反应试验, 结果显示日粮中搭配 20% 的茎叶粉时小鼠第 32 d 中毒死亡, 中毒症状类似疯草中毒。然而多篇文献报道, 蒙古黄芪和膜荚黄芪茎叶中不含有疯草中的可导致中毒物质, 其产生的结果可能是实验给小鼠服用了黄芪属中其他形态上类似于膜荚黄芪的有毒植物<sup>[16]</sup>。

### 2.2 遗传毒性试验

#### 2.2.1 细菌回复突变试验

对 4 个试验菌株的回变菌落数进行统计, 不同浓度受试物的回变菌落数与阴性对照数目接近, 但阳性对照组的回变数至少高于未处理对照组的 2 倍以上。因此, 黄芪茎叶的细菌回复突变试验结果为阴性, 无致突变性, 且两次重复试验结果相同 (表 2)。

#### 2.2.2 哺乳动物红细胞微核试验

与阴性对照组相比, 各剂量组含微核细胞率均无显著性差异 ( $p > 0.05$ ), 阳性对照组则显著高于阴性对照组, 具有显著性差异 ( $p < 0.01$ )。表明黄芪茎叶对小鼠骨髓红细胞含微核细胞率未见明显影响 (表 3)。

#### 2.2.3 小鼠精母细胞染色体畸变试验

与阴性对照组相比, 各剂量组染色体异常细胞率、常染色体和性染色体早分离率均无显著性差异 ( $p > 0.05$ ), 阳性对照组则显著高于阴性对照组, 具有显著性差异 ( $p < 0.01$ )。表明黄芪茎叶对小鼠精母细胞染色体畸变试验未见明显影响 (表 4)。

表 1 干制黄芪茎叶小、大鼠急性经口毒性试验

项目	性别	始重/g	终重/g	死亡数	$\text{LD}_{50}/(\text{g}/\text{kg})$
小鼠	雌性	19.72±1.00	28.04±1.22	0	>20.00
	雄性	19.71±1.00	30.25±1.43	0	>20.00
大鼠	雌性	198.32±10.83	243.74±11.52	0/10	>20.00
	雄性	198.00±10.14	306.81±24.25	0/10	>20.00

表2 细菌回复突变试验结果

Table 2 Results of bacterial reverse mutation test

受试物	剂量/( $\mu\text{g}/\text{皿}$ )	回变菌落数 (X $\pm$ SD)			
		TA <sub>97a</sub>		TA <sub>98</sub>	
		-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>	-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>
空白组照	0.0	109.71 $\pm$ 14.41	142.72 $\pm$ 13.00	31.33 $\pm$ 4.24	42.00 $\pm$ 2.62
溶剂组照	0.0	120.32 $\pm$ 21.02	150.71 $\pm$ 20.44	33.74 $\pm$ 4.00	44.34 $\pm$ 4.55
样品	8	107.34 $\pm$ 16.05	134.02 $\pm$ 10.93	32.72 $\pm$ 4.73	41.32 $\pm$ 4.92
	40	102.71 $\pm$ 9.17	136.75 $\pm$ 9.91	30.31 $\pm$ 3.21	35.75 $\pm$ 3.82
	200	118.71 $\pm$ 13.38	150.72 $\pm$ 15.12	33.75 $\pm$ 3.12	39.00 $\pm$ 3.61
	1000	120.34 $\pm$ 20.63	142.71 $\pm$ 16.85	31.35 $\pm$ 4.95	42.71 $\pm$ 4.004
	5000	116.00 $\pm$ 15.10	148.33 $\pm$ 12.72	34.00 $\pm$ 4.63	44.72 $\pm$ 4.53
NaN <sub>3</sub>	2.0	/	/	/	/
Dexon	50	2483.31 $\pm$ 100.22	/	1150.01 $\pm$ 168.25	/
2AAF	10	/	1656.74 $\pm$ 212.03	/	4826.71 $\pm$ 194.32
1.8HAQ	25	/	/	/	/

  

受试物	剂量/( $\mu\text{g}/\text{皿}$ )	回变菌落数 (X $\pm$ SD)			
		TA <sub>100</sub>		TA <sub>102</sub>	
		-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>	-S <sub>9</sub>	+S <sub>9</sub>
空白组照	0.0	133.31 $\pm$ 11.45	160.35 $\pm$ 13.83	256.32 $\pm$ 15.45	290.74 $\pm$ 18.06
溶剂组照	0.0	142.74 $\pm$ 20.47	171.00 $\pm$ 21.92	262.04 $\pm$ 21.135	301.32 $\pm$ 20.18
样品	8	126.31 $\pm$ 9.37	162.71 $\pm$ 17.25	249.34 $\pm$ 21.465	292.71 $\pm$ 18.27
	40	120.75 $\pm$ 13.44	157.34 $\pm$ 20.08	246.72 $\pm$ 17.05	301.01 $\pm$ 20.78
	200	141.75 $\pm$ 20.35	160.75 $\pm$ 15.04	252.72 $\pm$ 19.44	282.32 $\pm$ 16.75
	1000	136.01 $\pm$ 12.52	170.35 $\pm$ 14.84	257.01 $\pm$ 17.56	295.33 $\pm$ 20.52
	5000	139.72 $\pm$ 13.63	164.74 $\pm$ 9.95	262.32 $\pm$ 16.67	299.71 $\pm$ 14.42
NaN <sub>3</sub>	2.0	2733.30 $\pm$ 145.08	/	/	/
Dexon	50	/	/	860.08 $\pm$ 115.33	/
2AAF	10	/	3063.33 $\pm$ 190.12	/	/
1.8HAQ	25	/	/	/	936.70 $\pm$ 75.72

注: NaN<sub>3</sub>: 叠氮钠; Dexon: 对二甲基氨基苯重氮磺酸钠 (敌克松); 2AAF: 2-乙酰氨基芴; 1.8HAQ: 1.8-二羟基蒽醌。

表3 哺乳动物红细胞微核试验结果

Table 3 Results of mammalian erythrocyte micronucleus test

性别	组别	剂量/(g/kg)	鼠数	PCE 数	含微核的 PCE 数	含微核细胞率/%	PCE/RBC/%
雌	阴性对照	0.0	5	10000	23	2.30 $\pm$ 0.71	50.20 $\pm$ 1.35
	样品	2.5	5	10000	25	2.50 $\pm$ 0.50	50.40 $\pm$ 1.29
		5.0	5	10000	27	2.70 $\pm$ 0.42	49.80 $\pm$ 0.91
		10.0	5	10000	28	2.80 $\pm$ 0.61	50.10 $\pm$ 0.65
		环磷酰胺	40 mg/kg	5	10000	212	21.20 $\pm$ 1.53*
雄	阴性对照	0.0	5	10000	24	2.40 $\pm$ 0.55	50.20 $\pm$ 0.91
	样品	2.5	5	10000	27	2.70 $\pm$ 0.49	49.80 $\pm$ 1.20
		5.0	5	10000	27	2.70 $\pm$ 0.74	50.10 $\pm$ 1.29
		10.0	5	10000	31	3.10 $\pm$ 0.70	50.30 $\pm$ 1.04
		环磷酰胺	40 mg/kg	5	10000	220	22.00 $\pm$ 1.61*

注: 与阴性对照组比较, \* $p$ <0.01。

表4 小鼠精母细胞染色体畸变试验结果

Table 4 Results of chromosome aberration test in mouse spermatocytes

组别	剂量/(g/kg)	观察细胞数	性染色体单价体/个	常染色体单价体/个	染色体畸变/个	染色体异常细胞数/个	染色体异常细胞率/%
阴性对照	0.0	500	0	1	5	4	0.80
	2.5	500	0	0	4	5	1.00
样品	5.0	500	0	1	6	4	0.80
	10.0	500	0	1	7	3	0.60
环磷酸胺	40 mg/kg	500	0	11	54	48	9.60**

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

表5 干制黄芪茎叶对大鼠体重、进食量及食物利用率的影响

Table 5 Effects of Astragalus stem and leaf on body weight, food intake and food utilization of rats

性别	组别	剂量/(g/kg BW)	始重/g	终重/g	增重/g	总进食量/g	食物利用率/%
雌性	阴性对照	0.0	84.02±5.41	287.24±21.11	203.37±19.02	1767.41±63.21	11.51±0.51
		0.3	83.63±4.84	283.02±23.02	199.45±24.52	1792.92±46.31	11.14±0.81
	样品	0.6	83.55±4.61	301.44±20.71	217.94±23.35	1836.43±34.42	11.92±0.92
		1.2	84.15±5.87	298.21±24.05	214.34±22.32	1790.02±77.65	12.02±0.62
雄性	阴性对照	0.0	88.32±3.95	467.04±46.86	378.75±47.13	2485.60±61.18	15.24±1.11
		0.3	88.63±3.82	473.97±37.12	385.33±36.30	2514.05±47.73	15.30±0.92
	样品	0.6	88.44±3.81	469.25±55.81	380.70±54.21	2559.15±73.41	14.91±1.65
		1.2	88.36±4.13	489.40±49.43	401.14±52.37	2584.31±77.51	15.55±1.67

表6 黄芪茎叶对大鼠血液学的影响

Table 6 Effect of Astragalus stem and leaf on hematology in rats

性别	组别	剂量/(g/kg BW)	HGB/(g/L)	RBC/( $\times 10^{12}$ /L)	RBC/( $\times 10^9$ /L)	LYM/%	GRA/%
雌性	阴性对照	0.0	144.41±11.42	7.29±11.4	5.29±1.94	70.85±7.35	22.39±6.94
		0.3	148.62±10.32	7.37±0.55	4.52±1.55	74.77±7.07	17.23±6.92
	样品	0.6	136.74±12.44	7.14±0.04	4.28±1.66	64.75±6.50	26.60±6.02
		1.2	133.44±12.15	7.51±0.33	4.25±1.36	67.48±8.30	24.24±7.13
雄性	阴性对照	0.0	149.51±8.44	7.97±0.57	6.92±1.30	69.08±6.74	25.57±5.88
		0.3	144.02±9.13	7.96±0.32	6.23±0.94	68.90±6.70	24.66±6.86
	样品	0.6	145.64±9.46	7.61±0.47	6.51±1.45	69.67±9.72	23.56±8.99
		1.2	147.17±13.17	7.71±0.31	6.27±1.20	65.58±6.32	26.91±4.91
雌性	阴性对照	0.0	6.76±1.73	13.17±0.53	30.47±2.45	658.90±44.80	0.44±0.07
		0.3	8.00±3.56	12.53±0.50	29.02±4.33	643.60±56.10	0.45±0.06
	样品	0.6	8.65±1.97	12.67±0.97	29.32±2.98	638.70±54.50	0.43±0.08
		1.2	8.29±2.96	12.92±1.36	29.56±3.92	672.40±39.30	0.47±0.06
雄性	阴性对照	0.0	5.35±2.47	13.38±0.52	28.35±2.05	636.60±52.40	0.53±0.05
		0.3	6.44±2.18	13.62±0.41	27.79±0.97	651.3±53.6	0.51±0.04
	样品	0.6	6.77±1.63	13.21±0.78	28.49±2.34	635.8±52.6	0.49±0.08
		1.2	7.51±3.02	13.17±1.14	28.71±1.71	627.2±57.3	0.49±0.11

### 2.3 90 d 喂养试验

试验期间各组动物生长发育良好, 未观察到中毒表现和体征, 大鼠眼部检查、体重、增重、进食量、

食物利用率、血液及血生化等指标均未见损害性影响, 解剖及组织学观察未见明显病理组织学变化。

#### 2.3.1 对大鼠增重、进食量和食物利用率的影响

宫新城等<sup>[17]</sup>对母体使用黄芪茎叶胎鼠出生重及生长进行了评价,结果显示黄芪茎叶可以提高仔鼠的出生重和增长速度,其后代体质明显好于对照组。从表5中可以看出不同剂量组雌雄大鼠的始重、终重、增重及食物利用率与对照组相比,差异均无统计学意义( $p>0.05$ )。

### 2.3.2 对大鼠血液学指标和生化学指标的影响

试验末期,各剂量组大鼠与阴性对照组相比,血液学各指标均无显著性差异( $p>0.05$ )。结果显示黄芪茎叶对试验大鼠血红蛋白、红细胞计数、红细胞压积、白细胞计数及分类等未见明显影响(表6)。

实验数据显示,雄性高剂量组大鼠AST、BUN以及雌性低剂量组大鼠TG指标明显低于阴性对照组( $p<0.05$ ),但其检测值均在正常值范围内,其余指标与阴性对照组相比均无显著性差异( $p>0.05$ )(表7)。

### 2.3.3 对大鼠脏器重量与脏器比的影响

研究结果表明,中、高、低剂量组雌雄性别的大鼠脏器重量、脏器比数值与对照组相比,结果均未显示有显著差异( $p>0.05$ )(表8)。

### 2.3.4 对大鼠尿液检查和病理学检查的影响

对大鼠尿液进行检验,结果显示各组之间无显著

性差异。病理切片镜检显示阴性对照组2只雄鼠、高剂量组1只雄鼠可见胃部分腺体轻微扩张;阴性对照组1只雌鼠、高剂量组1只雌鼠可见肝血管周围少量炎细胞浸润;阴性对照组1只雌鼠可见肝细胞脂肪变性,局灶性;高剂量组1只雄鼠、1只雌鼠可见肝内炎症细胞浸润灶,局灶性;阴性对照组1只雄鼠可见肺血管周围有1处炎症细胞浸润灶;阴性对照组1只雌鼠可见肺边缘有1处炎症细胞浸润灶;高剂量组1只雄鼠可见肺边缘1处出血;阴性对照组2只雄鼠、高剂量组1只雌鼠可见部分肾小管上皮嗜碱性变;阴性对照组1只雄鼠可见肾间质少量炎症细胞浸润;阴性对照组1只雌鼠可见肾脏轻微肾盂肾炎,可见肾盂处炎症细胞浸润,移行上皮轻微增生;高剂量组1只雄鼠可见肾内1处尿囊泡;阴性对照组1只雌鼠、高剂量组1只雌鼠可见胸腺上皮轻微增生;阴性对照组1只雌鼠可见卵泡单纯性囊泡;阴性对照组3只雄鼠、高剂量组2只雄鼠可见前列腺间质有少量炎细胞节段性浸润;高剂量组1只雄鼠可见前列腺间质有炎细胞弥漫性浸润,其余未见异常情况。研究结果综合显示,受试物未引起高剂量组雌、雄大鼠相关的病理组织学变化,以上变化均为自发病变,因此,未见受试物引起的动物中毒性损伤。

表7 黄芪茎叶对大鼠血生化的影响

Table 7 Effect of Astragalus stem and leaf on blood biochemistry in rats

性别	组别	剂量/ (g/kg BW)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	TP/(×g/L)	Alb/(g/L)	TC/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)	Glu/ (mmol/L)
雌性	阴性对照	0.0	49.80±5.87	125.71±16.37	61.17±2.86	31.73±2.14	1.72±0.39	0.77±0.05	6.75±0.78
	样品	0.3	45.74±6.13	110.70±13.54	60.67±1.97	31.40±1.80	1.83±0.24	0.70±0.04*	6.58±0.49
		0.6	46.40±4.93	129.57±13.44	59.65±2.90	30.74±2.54	1.64±0.23	0.75±0.04	6.53±0.49
		1.2	45.94±7.51	124.84±18.27	60.70±2.14	31.36±1.96	1.36±0.31	0.74±0.05	6.38±0.40
雄性	阴性对照	0.0	41.74±7.48	117.22±15.39	52.34±3.00	26.35±3.37	1.32±0.14	0.51±0.06	6.14±0.58
	样品	0.3	47.01±8.31	108.80±12.73	52.69±4.00	25.76±1.52	1.37±0.29	0.52±0.06	6.51±0.79
		0.6	45.82±8.62	105.84±15.30	51.41±3.61	24.74±1.97	1.30±0.15	0.50±0.07	6.17±0.55
		1.2	45.14±9.55	98.92±14.36*	51.87±5.26	25.40±2.06	1.38±0.21	0.56±0.13	6.38±0.76
性别	组别	剂量/ (g/kg BW)	BUN/ (mmol/L)	CR/ (μmol/L)	GGT/(U/L)	ALP/(U/L)	K/ (mmol/L)	Na/ (mmol/L)	Cl/ (mmol/L)
雌性	阴性对照	0.0	8.81±1.85	61.40±5.90	1.69±0.33	70.34±5.60	5.88±0.99	155.01±11.25	113.81±8.63
	样品	0.3	8.35±1.31	56.55±3.56	1.59±0.33	70.82±6.81	5.93±1.43	155.69±11.56	114.17±9.60
		0.6	8.85±1.44	59.80±5.65	1.58±0.35	72.59±7.16	5.62±0.63	155.50±10.10	116.19±10.51
		1.2	8.57±1.55	57.63±6.20	1.62±0.29	69.12±6.95	6.01±1.05	157.06±10.57	114.49±9.27
雄性	阴性对照	0.0	8.85±0.93	41.74±6.07	1.12±0.48	97.83±9.63	5.19±0.42	147.24±5.40	108.04±3.75
	样品	0.3	8.41±0.61	42.88±2.57	1.00±0.48	94.49±9.21	5.21±0.38	145.53±5.70	108.75±3.36
		0.6	8.83±0.53	45.26±3.56	1.23±0.54	104.51±11.09	5.34±1.00	146.98±5.72	108.36±3.31
		1.2	7.70±0.73*	45.20±5.90	1.18±0.53	101.30±11.31	5.52±0.93	146.98±6.51	108.14±3.55

注: \*与阴性对照组比较,  $p<0.05$ 。

表8 黄芪茎叶对大鼠脏器重量和脏器比的影响 (g)

Table 8 Effects of Astragalus stem and leaf on visceral weight and visceral body ratio in rats

性别	组别	剂量/(g/kg BW)	脑	心脏	肝脏	肾脏	脾脏
雌性	阴性对照	0.0	1.38±0.10	0.85±0.10	7.18±0.42	1.88±0.17	0.51±0.08
	样品	0.3	1.36±0.09	0.87±0.11	7.15±0.61	1.90±0.22	0.51±0.06
		0.6	1.36±0.08	0.90±0.12	7.56±0.87	7.98±0.39	0.56±0.08
		1.2	1.35±0.09	0.85±0.09	7.46±0.75	1.96±0.19	0.55±0.08
雄性	阴性对照	0.0	1.48±0.12	1.29±0.20	11.42±1.31	3.07±0.31	0.74±0.11
	样品	0.3	1.49±0.09	1.28±0.15	11.89±1.18	3.17±0.40	0.74±0.08
		0.6	1.55±0.15	1.33±0.18	12.09±1.93	3.32±0.45	0.79±0.14
		1.2	1.53±0.06	1.36±0.10	12.60±2.07	3.37±0.33	0.84±0.14

  

性别	组别	剂量/(g/kg BW)	子宫(孕丸)	卵巢(附睾)	胸腺	肾上腺	空腹体重
雌性	阴性对照	0.0	0.64±0.19	0.15±0.03	0.31±0.05	0.07±0.01	256.41±20.05
	样品	0.3	0.56±0.16	0.14±0.02	0.29±0.06	0.07±0.02	250.03±23.41
		0.6	0.65±0.22	0.14±0.02	0.29±0.05	0.07±0.01	269.22±22.73
		1.2	0.65±0.15	0.15±0.04	0.28±0.04	0.08±0.01	265.31±27.42
雄性	阴性对照	0.0	3.68±0.41	1.46±0.21	0.36±0.07	0.07±0.02	432.54±43.96
	样品	0.3	3.72±0.25	1.46±0.14	0.31±0.07	0.07±0.02	441.83±37.15
		0.6	3.34±0.54	1.35±0.24	0.31±0.07	0.06±0.03	438.77±52.47
		1.2	3.66±0.35	1.43±0.16	0.33±0.13	0.06±0.02	454.24±49.71

### 3 结论

本试验结果显示,干制黄芪茎叶急性经口毒性试验雌雄大小鼠 LD<sub>50</sub>>250.00 g/kg BW,属实际无毒级。遗传毒性试验(细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验和小鼠精母细胞染色体畸变试验)结果均为阴性,表明该样品未显示致突变作用。90 d 经口毒性试验显示,试验期间动物未出现中毒表现和体征,大体解剖及组织学观察也未见明显与试验因素有关的病理组织学变化,对大鼠眼部检查、体重、增重、进食量和食物利用率、血液学和生化学、尿常规、脏器重量和脏器比等均无明显损害,未观察到有害作用剂量为 15.00 g/kg BW。研究对黄芪茎叶的急性毒性,三项遗传及 90 d 亚慢性毒性做了整体评价,为黄芪茎叶的安全性食用提供了科学数据,有助于黄芪的全株综合利用研究与综合应用,支撑黄芪产业的全链条和高质量开发。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典第 1 部[M].北京,中国医药科技出版社,2015 年版,2015:302-302  
State Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's Republic of China, Part 1 [M]. Beijing, China Medical Science Press, 2015: 302-302

[2] 陈国辉,黄文凤.黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J].

中国新药杂志,2008,17(17):24-27

CHEN Guo-hui, HUANG Wen-feng. Progress in pharmacological effects of compositions of *Astragalus membranaceus* [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2008, 17(17): 24-27

[3] 马宝旭."补药之长"黄芪的食疗应用[J].健身科学,2014,7:37-37

MA Bao-xu. Dietotherapy application of *Astragalus membranaceus* [J]. Journal of Fitness Science, 2014, 7: 37-37

[4] 陈虎虎,龚苏晓,张铁军,等.黄芪茎,叶的化学成分和药理作用研究进展[J].药物评价研究,2011,2:134-137

CHEN Hu-hu, GONG Su-xiao, ZHANG Tie-jun, et al. Chemical constituents and pharmacological function of stems and leaves of *Radix Astragali* and their application [J]. Drug Evaluation Research, 2011, 2: 134-137

[5] 毕小凤.黄芪茎叶主要化学成分及其部分药理作用研究[D].太原:山西中医药大学,2017

BI Xiao-feng. Studies on the main chemical constituents of *Astragalus membranaceus* stem and leaf and their pharmacological effects [D]. Taiyuan: Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, 2017

[6] 杨桂明,刘宝密,高慧英,等.黄芪地上部分黄芪总苷动态规律的研究[J].中医学报,2006,34(3):36-38

YANG Gui-ming, LIU Bao-mi, GAO Hui-ying, et al. Study on the dynamic rule of astragalosides in the aerial part of

- Astragalus membranaceus* [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2006, 34(3): 36-38
- [7] 万国靖,刘洪艳.黄芪根茎叶中黄芪甲苷的含量测定[J].黑龙江医药科学,2008,31(1):22-23  
WAN Guo-jing, LIU Hong-yan. Determination of astragaloside IV content in *Astragalus membranaceus* root, stem and leaf [J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 2008, 31(1): 22-23
- [8] 张丽敏,何永贵,尹红丽,等.黄芪甲苷药理作用研究进展[J].河北联合大学学报,2014,16(2):160-162  
ZHANG Li-min, HE Yong-gui, YIN Hong-li, et al. Research progress on pharmacological action of astragaloside IV [J]. Journal of Hebei United University, 2014, 16(2): 160-162
- [9] 习南,康佳,郝李娟,等.不同提取条件下黄芪茎叶与根中多糖含量的比较分析[J].中兽医学杂志,2013,1(3):6-9  
XI Nan, KANG Jia, HAO Li-juan, et al. Comparative analysis of polysaccharide content in stems, leaves and roots of *Astragalus membranaceus* under different extraction conditions [J]. Chinese Journal of Traditional Veterinary Science, 2013, 1(3): 6-9
- [10] 秦哲,李世宏,刘希望,等.黄芪多糖的药理学研究进展[C]//中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会第十一届会员代表大会暨第十三次学术讨论会与中国毒理学会兽医毒理专业委员会第五次学术研讨会论文集,2015  
QIN Zhe, LI Shi-hong, LIU Xi-wang, et al. Pharmacological research progress of astragalus polysaccharides [C]//Proceedings of the 11th Congress of Veterinary Pharmacology and Toxicology Branch of Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine and the 13th Symposium and the 5th Symposium of Veterinary Toxicology Committee of Chinese Society of Toxicology, 2015
- [11] 黄文静,周瑞,张严磊,等.黄芪茎叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J].中国食物与营养,2018,24(8):32-35  
HUANG Wen-jing, ZHOU Rui, ZHANG Yan-lei, et al. Study on extraction technology and antioxidant activity of total flavonoids from stems and leaves of *Astragalus membranaceus* [J]. Food and Nutrition in China, 2018, 24(8): 32-35
- [12] 齐彦爽,李肖,秦雪梅,等.黄芪总黄酮联合顺铂对 Lewis 荷瘤小鼠抗癌作用的研究[J].药学学报,2020,55(5):176-186  
QI Yan-shuang, LI Xiao, QIN Xue-mei, et al. Anti-cancer effect of the flavonoids of *astragalus* combined with cisplatin on Lewis lung carcinoma-bearing mice [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2020, 55(5): 176-186
- [13] 汪德清,田亚平,宋淑珍,等.黄芪总黄酮抗突变作用实验研究[J].中国中药杂志,2003,28(12):1164-1167  
WANG De-qing, TIAN Ya-ping, SONG Shu-zhen, et al. Anti-mutagenesis effects of total flavonoids of *Astragalus* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2003, 28(12): 1164-1167
- [14] 杨林.黄芪总黄酮对氧损伤小鼠胚胎 ROS 水平及抗氧化酶表达的影响[D].延边:延边大学,2019  
YANG Lin. Effects of total flavonoids of *Astragalus membranaceus* on ROS level and expression of antioxidant enzymes in oxygen injured mouse embryos [D]. Yanbian: Yanbian University, 2019
- [15] 丁伯良,王宏伟,张联丽,等.膜荚黄芪茎叶粉饲喂小鼠的毒性反应研究[J].西北农业学报,1994,3(4):50-52  
DING Bo-liang, WANG Hong-wei, ZHANG Lian-li, et al. Study on the toxicity reaction of feeding mice with dried ground *Astragalus membranaceus* [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 1994, 3(4): 50-52
- [16] 樊泽峰,樊月圆,赵宝玉,等.疯草中毒防治研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2006,1(1):24-25  
FAN Ze-feng, FAN Yue-yuan, ZHAO Bao-yu, et al. Research progress on prevention and treatment of locoweed poisoning [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2006, 1(1): 24-25
- [17] 宫新城,苑方重,刘占民,等.母体使用黄芪茎叶对小鼠出生重及生长的影响[C]//中国畜牧兽医学会中兽医学分会学术年会论文集,2005:151-153  
GONG Xin-cheng, YUAN Fang-zhong, LIU Zhan-min, et al. Effect of maternal use of *Astragalus* stems and leaves on birth weight and growth of mice [C]//Proceedings of Annual Meeting of Chinese Veterinary Branch of Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2005: 151-153