

# 参贝咀嚼片的免疫调节活性及其安全性评价

张婷婷<sup>1</sup>, 叶子<sup>1</sup>, 王萌<sup>2</sup>, 赵璠<sup>3</sup>, 伊扬磊<sup>1\*</sup>

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西咸阳 712100) (2. 陕西华州医药生物工程有限公司, 陕西西安 710054) (3. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西咸阳 712100)

**摘要:** 该研究旨在评价参贝咀嚼片的免疫调节活性和安全性。采用高、中、低三个剂量组 (1.20、0.80、0.40 g/kg, 以小鼠体质量为基准计), 对昆明小鼠进行了 30 d 的灌胃试验, 测定免疫调节活性相关指标包括体质量、脏器/体质量比值、细胞免疫、体液免疫、单核-巨噬细胞功能、NK 细胞活性等。其次, 以 SD 大鼠为研究对象, 按 20.00 g/kg 剂量开展急性毒性、遗传毒性 (Ames 试验, 骨髓细胞微核试验, 精子畸形试验) 以及 30 d 喂养试验。实验结果表明, 各剂量组 (1.20、0.80、0.40 g/kg) 对小鼠体质量及淋巴器官/体质量比值, 均未产生显著性影响。高剂量组 (1.20 g/kg) 能显著诱发小鼠迟发型变态反应 (DTH) 且提高小鼠抗体生成细胞数量、巨噬细胞吞噬指数 (7.04) 以及小鼠血清中溶血素水平 ( $p < 0.05$ )。安全性评价结果表明, 在 30 d 观察期内, 不同剂量的参贝咀嚼片对小鼠的体质量、进食量、食物利用率、血液学指标、血液生化学指标以及脏器系数均未产生显著影响, 且在受试剂量范围内, 参贝咀嚼片无诱发菌株突变和染色体畸变等作用。综上所述, 参贝咀嚼片拥有提升免疫力的作用, 且安全性良好。

**关键词:** 参贝咀嚼片; 人参; 平贝母; 保健食品; 免疫调节活性; 安全性评价

文章编号: 1673-9078(2022)09-80-91

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.9.1217

## Immune-regulatory Functions and Safety of Chewable Ginseng-Fritillary Bulb Tablet

ZHANG Tingting<sup>1</sup>, YE Zi<sup>1</sup>, WANG Meng<sup>2</sup>, ZHAO Fan<sup>3</sup>, YI Yanglei<sup>1\*</sup>

(1.College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Xianyang 712100, China)

(2.Shaanxi Huazhou Medical Biological Engineering Co. Ltd., Xi'an 710054, China)

(3.College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Xianyang 712100, China)

**Abstract:** In this study, the immune-regulatory functions and safety of chewable Ginseng-Fritillary bulb tablets were evaluated *in vivo*. For the immune-regulatory function evaluation, Kunming mice were administered chewable Ginseng-Fritillary bulb tablets by oral gavage at daily doses of 1.20, 0.80, and 0.40 g/kg (measured by body weight of mouse) for 30 days, and then body weight, organ/body weight ratio, cellular immunity, humoral immunity, monocyte-macrophage function and NK cell activity were measured. To assess the safety of the tablets, the acute toxicity, genotoxicity (via the Ames test, the bone marrow micronucleus test and the mouse sperm malformation test), and the 30-day feeding test were performed by using SD rats under a dose of 20.00 g/kg. The results show that the chewable Ginseng-Fritillary bulb tablets at all tested doses have no significant effects on the body weight and the lymphoid organ/body weight ratio of mice. In the high-dose group (1.20 g/kg), the tablets could significantly induce the delayed-type hypersensitivity (DTH) in mice and increase the number of antibody-producing cells, the macrophage phagocytosis index (7.04), and the serum hemolysin level ( $p < 0.5$ ). Furthermore, the safety evaluation results suggest that the tablets have no significant effects on the body weight, food intake, food utilization rate, hematological indices, blood biochemical indices and organ coefficients of mice. In addition, under the tested doses, no significant mutation or abnormality in the micronucleus formation of bone marrow

引文格式:

张婷婷,叶子,王萌,等.参贝咀嚼片的免疫调节活性及其安全性评价[J].现代食品科技,2022,38(9):80-91

ZHANG Tingting, YE Zi, WANG Meng, et al. Immune-regulatory functions and safety of chewable ginseng-fritillary bulb tablet [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 80-91

收稿日期: 2021-11-03

基金项目: 陕西省自然科学基金项目 (2021JQ-138); 大学生科研创新项目 (202110712161)

作者简介: 张婷婷 (2001-), 女, 本科在读, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: zhangtt@nwfufu.edu.cn

通讯作者: 伊扬磊 (1988-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物代谢调控和分子机制, E-mail: yyi@nwfufu.edu.cn

cells and sperm cells were observed. In conclusion, the chewable Ginseng-Fritillary bulb tablets can enhance immunity reasonably safely.

**Key words:** Ginseng-Fritillaria bulb tablet; Ginseng; *Fritillary bulb*; functional food; immune-regulatory function; safety evaluation

人参作为一种名贵的中药材,具有十分悠久的药用史,相关研究表明其具有提高免疫力<sup>[1]</sup>、缓解疲劳<sup>[2]</sup>、改善心脑血管情况<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>等作用。人参的活性成分有皂苷、挥发油、人参多糖等,其最主要的营养成分以及功能因子人参皂苷<sup>[5]</sup>。人参皂苷共有50种类型,如人参二醇型、人参三醇型、齐墩果酸型等,其中人参皂苷 Re 是人参三醇型皂苷的主要成分,同时其也是人参茎叶中含量最多的皂苷<sup>[6]</sup>,其具有降血糖、抗氧化以及保护心血管系统等多种功能<sup>[7-9]</sup>。平贝母为多年生草本植物,是一种百合科贝母属的名贵中草药。其在传统中医中主要用于缓解肺热燥咳、治疗干咳少痰、阴虚劳嗽、咳痰带血等症<sup>[10-12]</sup>。平贝母中含有多糖类、生物碱类、生物碱苷类、核苷类以及皂苷类等多种活性成分,具有抗氧化、抗衰老和降血糖等功能。

随着现代医学科技的发展,传统中药材的应用范围得到极大的扩展。人参、平贝母等中药材,由于其对人体具有良好的效果且具有较好的安全性,早已被列入卫计委公布的药食同源名录中。以人参、平贝母为基础的保健食品具有较为广泛的应用前景。现代生活的快节奏使得亚健康人群数量逐渐增加,人们对保健食品在提高免疫力且食用便捷方面的需求也逐步上升。前期研究发现人参与平贝母组合物能够提高免疫力,但其剂量与安全性没有验证。因此,本研究采用浸泡、浓缩等系列操作,以人参和平贝母为主要原料,制备主要活性成分为人参皂苷 Re 和生物碱的参贝咀嚼片。

根据《保健食品功能评价方法(2020年版)征求意见稿》<sup>[13]</sup>和《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020年版)》<sup>[14]</sup>,对参贝咀嚼片进行较为系统的免疫调节活性及安全性评价,以期为人参咀嚼片的合理安全应用提供科学数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 试验材料

参贝咀嚼片,自制,其标志性成分及含量为:人参皂苷 Re (1.30 mg/g)、总生物碱 (0.10 mg/g)。自制参贝咀嚼片的主要原料为人参和平贝母,辅料为蔗糖、乳糖、糊精、甘露醇、硬脂酸镁。实验前,先将试验样品研碎,以蒸馏水为溶剂溶解样品,随用随配。

#### 1.1.2 试验动物

实验动物包括 SD 大鼠 100 只和 SPF 级昆明种小

鼠 300 只,均购自西安交通大学医学院实验动物中心,SCXK(陕)2018-001。试验动物房为屏障系统,饲养条件如下:温度 20~25 ℃,湿度 45%~65%。

#### 1.1.3 主要菌株

用于细菌回复突变实验的菌株,包括 TA97、TA98、TA100、TA102 四种菌株,均购自上海北诺生物科技有限公司。

#### 1.1.4 主要试剂

SA 缓冲液、Hank's 液、补体(豚鼠血清)、Gimsa 染液,北京索莱宝科技有限公司;ConA、MTT,美国 Sigma-Aldrich 公司;SRBC,天津市大茂化学试剂厂;RPMI1640 培养液,青岛海博生物技术有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 试验样品制备

将人参、平贝母经净制、检验合格后供制备使用。取人参、平贝母,以体积分数 80%乙醇为溶剂,回流提取 2 次,溶剂用量分别为 10 倍量、8 倍量,提取时间分别为 2 h、1 h,过滤后合并滤液,减压浓缩滤液(-0.065~0.075 MPa, 65 ℃),浓缩为相对密度为 1.30~1.35 (60 ℃)的清膏。

取上述醇提后的药渣,加入 10 倍量水(m/V)为溶剂提取 1.5 h,过滤并收集滤液(药渣另器保存),滤液减压浓缩(-0.065~0.075 MPa, 65 ℃)至相对密度为 1.30~1.35 (60 ℃)的清膏。合并同种原料的两次浸膏并减压干燥(-0.085 MPa, 65 ℃),将所得干膏粉碎成细粉,过 80 目筛。

将上述二种膏粉与蔗糖、糊精、乳糖、甘露醇混匀,用体积分数 70%乙醇制成软材,16 目筛制粒,于 55~60 ℃干燥后 14 目筛整,将硬脂酸镁加入上述干颗粒中,混合均匀、压片、包装、检验即得。

### 1.2.2 试验动物及分组

增强免疫力功能试验中:选用 200 只 SPF 级昆明种雄性小鼠(体质量为 18~22 g),将其分为五大组:

(一)小鼠迟发型变态反应(DTH)测定、淋巴器官/体质量比值测定;(二)抗体生成细胞检测、血清溶血素测定;(三)小鼠碳廓清试验;(四)小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验;(五)ConA 诱导的小鼠淋巴细胞转化试验、NK 细胞活性测定。每大组 40 只小鼠并随机分为 4 小组,每小组 10 只小鼠。灌胃剂量为人体推荐量的 30 倍、20 倍、10 倍,即 1.20、0.80、0.40 g/kg(以小鼠体质量为基准计,下同)三个剂量

组,另设阴性对照组(蒸馏水)。受试样品配制:取适量样品研碎,分别称取 1.20 g、0.80 g、0.40 g 加蒸馏水至 20.00 mL,混合均匀,配制成浓度为 6.00%、4.00%、2.00%的混悬液,备用<sup>[13]</sup>。

安全性试验中:选取雌雄 SD 大鼠各 10 只(体质量为 180~220 g),用于大鼠急性毒性试验,以最大耐受剂量 20.00 g/kg(以小鼠体质量为基准计)进行灌胃;选取昆明种小鼠雌雄各 25 只(体质量为 25~30 g),随机分为五组,每组 10 只,雌雄各半,用于小鼠骨髓细胞微核试验,设置高(10.00 g/kg)、中(5.00 g/kg)、低(2.50 g/kg)三个剂量处理组和溶剂对照组、环磷酰胺阳性对照组(CP, 40.00 mg/kg,按小鼠体质量计,下同);受试样品配制:取适量样品研碎,分别称取 10.00 g、5.00 g、2.50 g 加蒸馏水至 20.00 mL,混合均匀,配制成质量浓度为 50.00%、25.00%、12.50%的混悬液,备用。选取雄性昆明种小鼠 50 只(体质量为 25~35 g),将小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,用于小鼠精子畸形试验,设置高(10.00 g/kg)、中(5.00 g/kg)、低(2.50 g/kg)三个剂量处理组和溶剂对照组、环磷酰胺阳性对照组(CP, 40.00 mg/kg);受试样品配制:取适量样品研碎,分别称取 10.00 g、5.00 g、2.50 g 加蒸馏水至 20.00 mL,混合均匀,配制成浓度为 50.00%、25.00%、12.50%的混悬液,备用。选取离乳 SD 大鼠雌雄各 40 只(体质量为 60~95 g),随机分为 4 组,每组 20 只,雌雄各半,用于 30 d 喂养试验,以人体推荐量的 100、50、25 倍设置剂量组,即 4.00、2.00、1.00 g/kg 三个剂量组,另设阴性对照组(蒸馏水)。受试样品配制:取适量样品研碎,分别称取 4.00 g、2.00 g、1.00 g 加蒸馏水至 20.00 mL,混合均匀,配制成质量浓度为 20.00%、10.00%、5.00%的混悬液,备用<sup>[14]</sup>。

## 1.2.3 免疫功能评价试验

### 1.2.3.1 细胞免疫试验

小鼠迟发型变态反应(DTH)试验:各组小鼠在灌胃处理的第 26 d,于腹腔处注入 2.00% (V/V) 的绵羊红细胞(SRBC) 0.20 mL,用于致敏小鼠,在致敏后的第 4 天,于每只小鼠的左后跖部皮下注射 20  $\mu$ L 20.00% (V/V) SRBC 进行攻击。在用第二次注射 SRBC 的前后各 24 h 对小鼠左后足跖的厚度进行测量,并用 SRBC 攻击前后小鼠足跖的厚度差作为免疫激活指标<sup>[13]</sup>。

刀豆蛋白 A (ConA) 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验:将小鼠脾脏制成细胞悬液并调整为每毫升  $3 \times 10^6$  个细胞,将每一份细胞悬液分为两孔,以每孔 1.00 mL 的剂量加到 24 孔细胞培养板中,分别为试验组和对照组。其中实验组孔中额外添加 ConA 溶液 75  $\mu$ L,对照

组不做任何处理,置于 37  $^{\circ}$ C、5.00% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 68 h。之后吸取 0.70 mL 上清液弃掉,并向各孔中加入 0.70 mL RPMI1640 培养液和 50  $\mu$ L MTT(5 mg/mL),于同一条件下再次培养 4 h 后,加入 1.00 mL 酸性异丙醇,紫色结晶完全溶解后,用紫外分光光度计测定其在 570 nm 处的吸光度值(OD)<sup>[13]</sup>。

### 1.2.3.2 体液免疫实验

抗体生成细胞检测:将各组小鼠于腹腔处注入 0.20 mL 质量分数 2.00% SRBC,用于致敏小鼠,在致敏 4 d 后,取小鼠的脾脏制成细胞悬液(每毫升  $5 \times 10^6$  个细胞)。混合 1% (m/V) 的琼脂糖凝胶与相同体积 2 倍浓度的 Hank's 液,以每管 0.50 mL 的体积转移至小试管中,同时向试管中加入 50  $\mu$ L 10% 的 SRBC,20  $\mu$ L 脾细胞悬液,混匀。然后倾注入铺有琼脂底层的载玻片上,待琼脂凝固后于 CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 1.5 h。孵育结束之后,再加入一定量补体,之后转移载玻片至培养箱内并在同一条件下再次孵育 1.5 h,观察玻片上的溶血空斑数<sup>[13]</sup>。

血清溶血素的测定:在对小鼠进行灌胃处理的第 26 天,将各组小鼠于腹腔处注射 0.20 mL 的 2.00% (V/V) SRBC 悬液,连续免疫 4 d。4 d 后,于眼球处采血,室温静置后通过水平离心方法分离得到血清,将 100  $\mu$ L 用生理盐水稀释过的血清转移至微量血凝板内,同时向孔内添加等量 0.50% SRBC,用移液枪混合均匀。将微量血凝板转移至 37  $^{\circ}$ C 恒温箱中温育 3 h,使其中物质反应彻底。具体测定时,取其上清液以测定在波长为 540 nm 处的 OD 值,用以统计血球凝集度<sup>[13]</sup>。

### 1.2.3.3 单核-巨噬细胞功能及 NK 细胞活性测定

小鼠碳廓清试验:在小鼠尾部静脉注射印度墨汁,于不同时间点在鼠眼眶处取血 20.00  $\mu$ L,加到提前准备好的 2.00 mL 0.10% 的碳酸钠溶液中,用移液枪将样品混合均匀,测定其在 600 nm 处的光密度值(OD)。测量小鼠体质量并取其肝脏和脾脏分别称其质量。按下述公式(1)计算出吞噬指数(a)。

$$T_a = \frac{M}{M_{肝} + M_{脾}} \times \sqrt[3]{\frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{10^{-2}}} \quad (1)$$

式中:

$T_a$ ——吞噬指数(a);

$M$ ——小鼠体质量,g;

$M_{肝}$ ——小鼠肝脏质量,g;

$M_{脾}$ ——小鼠脾脏质量,g;

$OD_1$ 、 $OD_2$ ——注射后 2、10 min 时取血处理后所测得的光密度值<sup>[13]</sup>。

小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验:在各组小

鼠的腹腔处注射 1.00 mL 的 20% SRBC, 于注射结束 30 min 后处死小鼠, 再经腹腔注射 2.00 mL 生理盐水后吸取 1.00 mL 腹腔洗液制成细胞涂片。统计所制涂片中对鸡红细胞具有吞噬能力的巨噬细胞的数量和被吞噬的鸡红细胞的数目以及其被消化的程度, 以此计算细胞吞噬百分率、吞噬指数 (b) [13]。

$$S = \frac{n_1}{n} \times 100\% \quad (2)$$

$$T_b = \frac{n_2}{n} \quad (3)$$

式中:

S——吞噬百分率, %;

$T_b$ ——吞噬指数 (b);

n——计数的巨噬细胞总数;

$n_1$ ——吞噬红细胞的巨噬细胞数;

$n_2$ ——被吞噬的红细胞数。

NK 细胞活性测定: 各取 100  $\mu$ L 靶细胞和效应细胞 (1:50), 转移至 U 型 96 孔板中, 向其中一孔中添加 100  $\mu$ L 靶细胞和相同体积的培养液, 即靶细胞自然释放孔; 另一孔中加入相同体积的靶细胞和 1% NP40, 即靶细胞最大释放孔; 两孔均设置三组平行孔, 于 CO<sub>2</sub> 体积分数为 5.00% 的 37  $^{\circ}$ C 培养箱中培养 4 h 后, 1 500 r/min 离心 5 min, 取一普通 96 孔培养板, 向各孔中添加 100  $\mu$ L LDH 基质液, 将 U 型 96 孔培养板中各孔取 100  $\mu$ L 上清液转移至其中, 在室温下孵育 8 min 后于每孔内加入 30  $\mu$ L 浓度为 1 mol/L 的 HCl 溶液, 并用酶标仪测得混合液于 490 nm 波长处的 OD 值。按照公式 (4) 计算 NK 细胞的活性 [13]。

$$H = \frac{OD_{反} - OD_{自}}{OD_{最} - OD_{自}} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

H——NK 细胞活性, %;

$OD_{反}$ ——反应孔 OD 值;

$OD_{自}$ ——自然释放孔 OD 值;

$OD_{最}$ ——最大释放孔 OD 值。

## 1.2.4 安全性评价试验

### 1.2.4.1 大鼠急性毒性试验

对大鼠进行禁食处理, 期间对其饮水不做限制, 处理 16 h 后将受试样品以 20.00 mL/kg 的体积灌胃给大鼠。在对大鼠进行灌胃处理后 14 d, 每日观察其是否有中毒症状或死亡情况出现, 分别于灌胃之后第 7 天、第 14 天称其体质量, 并在第 14 天称重之后解剖大鼠, 检查其脏器是否有异常改变出现 [14]。

### 1.2.4.2 遗传毒性试验

Ames 试验: 用不同的间接致突变物 (每皿 10  $\mu$ g

2-氨基芴用于 TA97、TA98、TA100 菌株, 每皿 50.00  $\mu$ g 1,8-二羟基蒽醌用于 TA102 菌株) 测定经诱导后的大鼠肝微粒体酶 (S-9) 的活性。试验样品参贝咀嚼片设每皿 5 000.00、1 000.00、200.00、40.00、8.00  $\mu$ g 五个剂量组并设置溶剂对照组、自发回变组和阳性对照组。在添加与未添加诱导后大鼠肝微粒体酶的试验条件下采用平板掺入法试验进行检测, 每个组均设置三个平行皿 [14]。

小鼠骨髓细胞微核试验: 在首次对小鼠进行灌胃处理的 24 h 后再次对其灌胃给样, 在进行二次灌胃处理的 6 h 后取小鼠股骨处的骨髓制成骨髓涂片, 观察各小鼠的嗜多染红细胞 (PCE) 及其中的微核细胞数、嗜多染红细胞中成熟红细胞数 (NCE), 并计算二者比值 (PCE/NCE) 及微核的千分率 [14]。

小鼠精子畸形试验: 连续灌胃给样 5 d。在最后一次灌胃的 30 d 后, 取小鼠两侧附睾制成涂片, 各小鼠统计一千条完整的精子, 记录精子涂片中畸形精子数量和具体畸形类型并以此计算出各组小鼠的精子畸形率 [14]。

### 1.2.4.3 30 d 喂养试验

在 30 d 试验期内, 每天以 10.00 mL/kg 的容量对大鼠进行灌胃处理一次, 期间每日观察大鼠的一般行为表现, 观察大鼠是否有中毒症状和死亡情况出现, 每星期记录一次大鼠体质量和二次食物摄入量, 用以计算大鼠每星期的食物利用率和试验期间的总食物利用率, 在试验期间不限制大鼠的进食及饮水。在试验结束后的 16 h 内对大鼠进行禁食处理, 称量其空腹体质量, 测定其血液学指标和血液生化学指标, 之后解剖大鼠观察内脏是否发生改变及具体改变情况, 取其肝、肾、脾、睾丸作组织病理学检查并称量各脏器的湿质量, 用以计算其脏器质量/体质量比值 [14]。

## 1.2.5 试验数据统计

各组数据以“平均值 $\pm$ 标准差”表示, 并用 SPSS 21.0 软件对试验数据进行卡方检验、秩和检验、Dunnnett 比较或方差分析 [13,14]。

## 2 结果与分析

### 2.1 参贝咀嚼片对小鼠体质量及淋巴器官/体质量比值的影响

采用三种剂量的参贝咀嚼片每日灌胃小鼠, 持续 30 d。结果如图 1 所示, 处理组小鼠增加质量在 20.60~20.90 g, 与对照组 (20.50 g) 相比, 没有显著性差异 ( $p > 0.05$ ); 三个剂量组小鼠的胸腺质量/体质量比分别为 2.88/10<sup>3</sup>、2.97/10<sup>3</sup>、2.92/10<sup>3</sup>, 与对照组

( $2.90/10^3$ ) 相比, 没有显著性差异 ( $p>0.05$ ); 各剂量组小鼠脾脏质量/体质量 ( $3.18/10^3$ 、 $3.36/10^3$ 、 $3.33/10^3$ ) 比与对照组 ( $3.50/10^3$ ) 相比, 没有显著差异 ( $p>0.05$ ), 即试验样品参贝咀嚼片对小鼠的体质量增长、胸腺质量/体质量比和脾脏质量/体质量比没有明显影响。

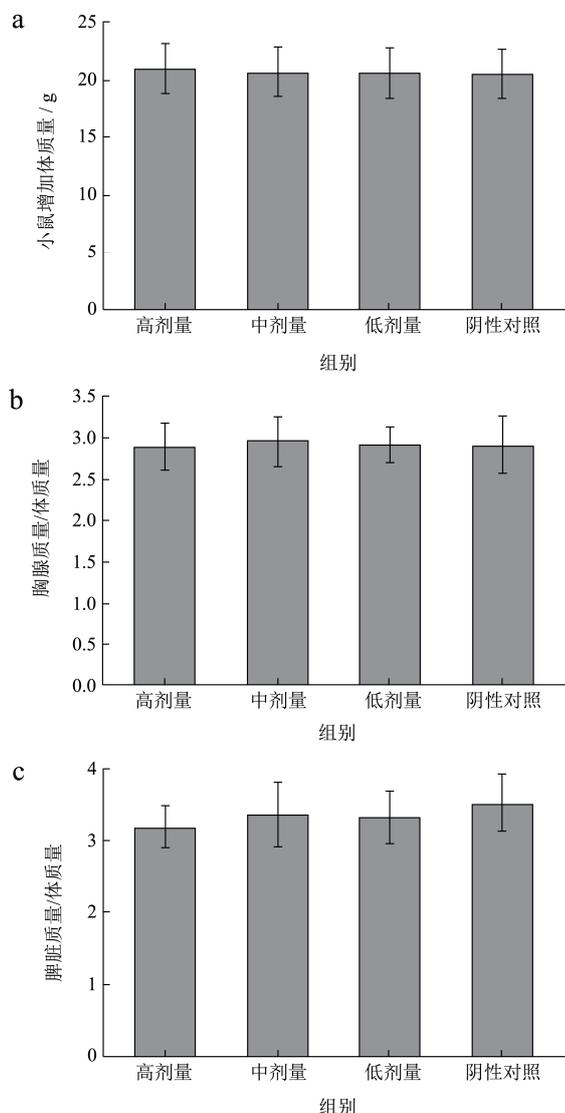


图1 参贝咀嚼片对小鼠体质量 (a)、胸腺/体质量比值 (b)、脾脏/体质量比值 (c) 的影响

Fig.1 Effects of Ginseng - *Fritillaria* chewable tablet on body weight (a), thymus/body weight ratio (b), spleen/body weight ratio (c) in mice

注: 各剂量组与阴性对照组比较,  $p>0.05$ 。

## 2.2 参贝咀嚼片对细胞免疫功能的影响

迟发型变态反应 (DTH) 为一类由 T 细胞介导的炎症免疫反应, 是评价中药和天然活性物质免疫调节功能的重要指标之一<sup>[15]</sup>。在对小鼠进行三种剂量的参贝咀嚼片灌胃处理 30 d 后, 检测并记录小鼠各项相关

指标。结果如图 2a 所示, 高剂量组小鼠经 SRBC 诱导的左后足跖厚度为 0.60 mm, 与阴性对照组相比, 增加了 17.65%, 且差异显著 ( $p<0.05$ )。

刀豆蛋白 A (ConA) 是一种特异性 T 细胞分裂原, 由 ConA 诱导的淋巴细胞增殖常用于评价保健食品的免疫增强效果<sup>[16]</sup>。高剂量和中剂量参贝咀嚼片处理组中, ConA 诱导的淋巴细胞活化增殖反应有轻度的增强作用, 其 OD 差值分别为 0.14 和 0.15, 但与对照组相比 (0.13), 差异未达到统计学显著 ( $p>0.05$ ), 低剂量组 OD 差值与对照组相比亦无显著性差异 ( $p>0.05$ ) (如图 2b)。综合上述两项结果, 说明参贝咀嚼片能够提升小鼠细胞免疫功能。

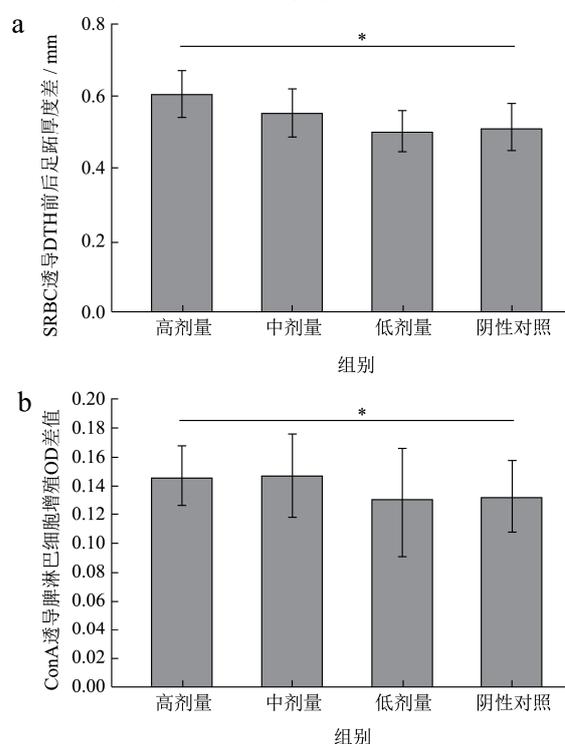


图2 参贝咀嚼片对小鼠迟发型变态反应 (a)、ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化能力 (b) 的影响

Fig.2 Effects of Ginseng - *Fritillaria* chewable tablet on delayed type hypersensitivity (a), ConA-induced splenic lymphocyte transformation (b), lymphoid organ/body weight ratio of mice

注: 与阴性对照组比较, \*表示  $p<0.05$ 。图 3 同。

## 2.3 参贝咀嚼片对体液免疫功能影响

在对小鼠以不同剂量的参贝咀嚼片灌胃 30 d 后, 测得各项体液免疫相关指标变化情况如图 3 所示, 小鼠溶血空斑数和小鼠溶血素浓度均随参贝咀嚼片剂量的上升而上升, 高剂量组小鼠溶血空斑数 (每  $10^6$  个脾细胞 1 062 个) 与对照组 (每  $10^6$  个脾细胞 950 个) 相比有显著提升 ( $p<0.05$ )。在血清溶血素水平方面, 高剂量组小鼠的抗体积数 (184.10) 与对照组 (165.90)

相比亦有显著提升 ( $p < 0.05$ )。由此表明, 参贝咀嚼片可以增加抗体生成细胞数量, 提升血清溶血素水平, 具有增强机体体液免疫的潜力。

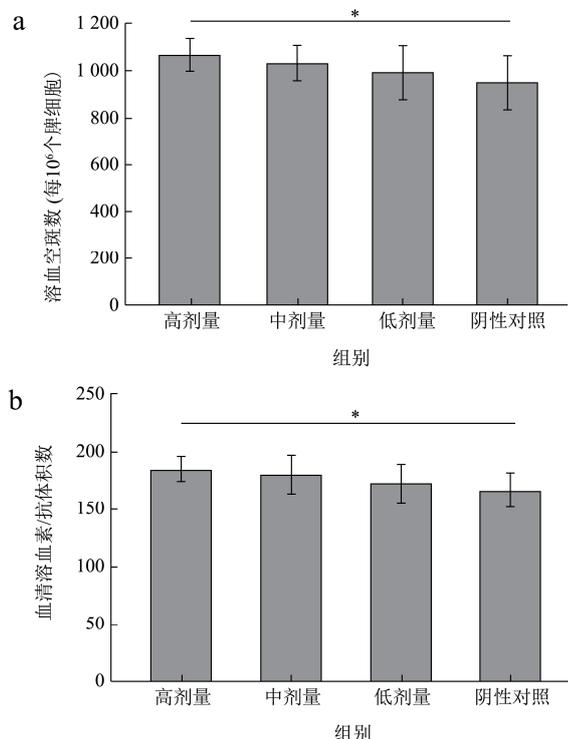


图3 参贝咀嚼片对小鼠抗体生成细胞功能 (a) 和小鼠溶血素水平 (b) 的影响

Fig.3 Effects of Ginseng-Fritillaria chewable tablet on antibody-producing cell function (a) and hemolysin level (b) in mice

### 2.4 参贝咀嚼片对小鼠单核-巨噬细胞功能和NK细胞活性的影响

使用不同剂量参贝咀嚼片对小鼠经口灌胃给药, 各组小鼠进行碳粒廓清试验、巨噬细胞吞噬鸡红细胞

试验和NK细胞活性测定。结果如表1所示, 高剂量组小鼠的碳廓清能力为7.04, 与对照组(5.72)相比有显著性提升 ( $p < 0.05$ )。在巨噬细胞吞噬功能方面, 高剂量组的吞噬百分率(31.10%)与对照组(28.80%)相比有显著性提升 ( $p < 0.05$ )。且上述指标的增加程度呈现明显的剂量依赖关系。但在NK细胞活性方面, 各剂量组与阴性对照组相比, 均没有显著性变化 ( $p > 0.05$ ) (表1)。由此表明, 参贝咀嚼片可以有效提升小鼠碳粒廓清能力和巨噬细胞的吞噬能力, 提升机体的免疫清除能力。但是, 在所测试剂量范围内, 参贝咀嚼片对NK细胞的活性没有显著影响。

### 2.5 参贝咀嚼片安全性评价结果

#### 2.5.1 大鼠急性毒性试验结果

将参贝咀嚼片按大鼠的最大耐受剂量 (MTD) (20.00 g/kg) 进行灌胃。在14d观察期内, 大鼠生长良好、行为正常、反应敏捷, 无中毒症状, 无大鼠死亡 (表2)。在体质量增加方面, 雌、雄大鼠在第7天体质量增长率分别为12.92%和22.46%, 第14天体质量增长率分别为24.44%和41.33%, 增长与历史对照相当。上述结果说明雌、雄大鼠的急性经口毒性MTD均大于20.00 g/kg。观察期过后解剖大鼠, 检查其主要脏器, 结果显示大鼠的主要脏器均没有出现明显异常。即试验样品参贝咀嚼片属于无毒级产品。

#### 2.5.2 遗传毒性试验

Ames试验结果如表3所示, 不论体系中是否存在S-9, 各参贝咀嚼片剂量组的回变菌落数于溶剂对照组相比, 差异最大为5.77%, 且所有剂量组的回变菌落数均小于二倍的自发回变菌落数, 也没有剂量-反应关系的存在, 该结果表明试验样品参贝咀嚼片没有诱发菌株突变的能力。

表1 参贝咀嚼片对小鼠单核-巨噬细胞功能及NK细胞活性的影响

Table 1 Effects of Ginseng-Fritillaria chewable tablet on the function of monocyte-macrophage and NK cell activity in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/(g/kg)	吞噬指数 a	p 值	吞噬百分率/%	p 值	吞噬指数 b	p 值	NK 细胞活性/%	p 值
高剂量	1.20	7.04±1.04*	0.03	31.10±2.00*	0.02	0.83±0.10*	0.04	33.69±2.73	1.00
中剂量	0.80	6.74±0.88	0.11	30.50±1.70	0.10	0.78±0.08	0.38	32.56±2.18	0.71
低剂量	0.40	6.32±0.94	0.47	29.80±1.70	0.46	0.76±0.08	0.74	33.02±2.50	0.94
阴性对照	0.00	5.72±1.44	-	28.80±1.70	-	0.74±0.07	-	33.53±2.46	-

注: 各剂量组与阴性对照组比较, \*表示  $p < 0.05$ 。

表2 大鼠急性毒性试验结果

Table 2 Results of acute toxicity test in rats ( $\bar{x} \pm s$ )

性别	动物数/只	剂量/(g/kg)	初始体质量/g	第7天体质量/g	第14天体质量/g	出现中毒症状动物数/只	死亡数/只
雌性	10	20.00	192.70±12.20	217.60±12.90	239.80±17.60	0	0
雄性	10	20.00	203.00±12.20	248.60±14.90	286.70±19.20	0	0

表 3 Ames 试验结果

Table 3 Results of Ames test ( $\bar{x}\pm s$ )

剂量/( $\mu\text{g}$ , 按每皿计)	TA97		TA98	
	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
5000.00	147.00 $\pm$ 7.00	149.00 $\pm$ 10.10	34.30 $\pm$ 4.00	35.30 $\pm$ 4.00
1000.00	150.30 $\pm$ 9.00	151.70 $\pm$ 10.00	35.00 $\pm$ 4.00	35.70 $\pm$ 3.10
200.00	153.30 $\pm$ 11.10	152.30 $\pm$ 9.10	35.70 $\pm$ 2.50	35.30 $\pm$ 3.50
40.00	154.30 $\pm$ 8.30	153.30 $\pm$ 11.10	35.70 $\pm$ 4.00	35.00 $\pm$ 3.00
8.00	153.30 $\pm$ 10.00	154.70 $\pm$ 8.70	34.70 $\pm$ 3.10	34.30 $\pm$ 3.50
溶剂对照	156.00 $\pm$ 11.10	151.70 $\pm$ 11.00	34.00 $\pm$ 3.00	34.70 $\pm$ 2.10
自发回变	157.30 $\pm$ 7.50	152.00 $\pm$ 9.50	34.70 $\pm$ 3.50	36.00 $\pm$ 2.60
阳性对照	2194.30 $\pm$ 56.40	1716.00 $\pm$ 145.90	1148.30 $\pm$ 32.20	5324.70 $\pm$ 103.80
	敌克松 每皿 50.00 $\mu\text{g}$	2-AF 每皿 10.00 $\mu\text{g}$	敌克松 每皿 50.00 $\mu\text{g}$	2-AF 每皿 10.00 $\mu\text{g}$
剂量/( $\mu\text{g}$ , 按每皿计)	TA100		TA102	
	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
5000.00	170.70 $\pm$ 9.00	171.30 $\pm$ 9.60	268.70 $\pm$ 13.60	267.70 $\pm$ 14.20
1000.00	167.70 $\pm$ 10.00	176.00 $\pm$ 8.00	279.30 $\pm$ 14.00	281.70 $\pm$ 16.50
200.00	167.30 $\pm$ 9.00	170.00 $\pm$ 11.10	278.00 $\pm$ 19.70	275.70 $\pm$ 16.20
40.00	171.70 $\pm$ 10.00	171.30 $\pm$ 8.10	278.70 $\pm$ 21.20	276.00 $\pm$ 15.10
8.00	173.70 $\pm$ 10.00	171.30 $\pm$ 10.30	274.00 $\pm$ 16.70	278.30 $\pm$ 15.60
溶剂对照	167.70 $\pm$ 9.00	173.00 $\pm$ 8.50	274.70 $\pm$ 13.60	274.70 $\pm$ 18.60
自发回变	175.00 $\pm$ 6.00	173.00 $\pm$ 10.10	277.00 $\pm$ 14.40	279.30 $\pm$ 14.00
阳性对照	2976.00 $\pm$ 157.50	3041.30 $\pm$ 76.80	786.70 $\pm$ 57.10	833.30 $\pm$ 49.20
	$\text{NaN}_3$ 每皿 1.50 $\mu\text{g}$	2-AF 每皿 10.00 $\mu\text{g}$	敌克松 每皿 50.00 $\mu\text{g}$	1,8-二羟基蒽酮 每皿 50.00 $\mu\text{g}$

注：以上结果为 3 个平皿的均值 $\pm$ 标准差。

表 4 小鼠骨髓细胞微核试验结果

Table 4 Result of micronucleus test in mouse bone marrow cell

性别	剂量/(g/kg)	动物数/只	检查 PCE 数/个	微核数/个	微核率( $\bar{x}\pm s$ )/‰	PCE/NCE	比值( $\bar{x}\pm s$ )
雌	10.00	5	5000	5	1.00 $\pm$ 0.71	1000/902	1.11 $\pm$ 0.06
	5.00	5	5000	4	0.80 $\pm$ 0.84	1000/887	1.13 $\pm$ 0.08
	2.50	5	5000	5	1.00 $\pm$ 0.00	1000/870	1.15 $\pm$ 0.05
	0.00	5	5000	6	1.20 $\pm$ 0.84	1000/920	1.09 $\pm$ 0.09
	CP(40 mg/kg)	5	5000	100	20.00 $\pm$ 2.92**	1000/1012	0.99 $\pm$ 0.06
雄	10.00	5	5000	6	1.20 $\pm$ 0.84	1000/876	1.15 $\pm$ 0.08
	5.00	5	5000	5	1.00 $\pm$ 0.71	1000/881	1.14 $\pm$ 0.09
	2.50	5	5000	5	1.00 $\pm$ 0.00	1000/896	1.12 $\pm$ 0.07
	0.00	5	5000	6	1.20 $\pm$ 0.84	1000/890	1.13 $\pm$ 0.06
	CP(40 mg/kg)	5	5000	97	19.40 $\pm$ 3.21**	1000/1009	0.99 $\pm$ 0.06

注：与溶剂对照组比较，\*\*表示  $p < 0.01$ 。

小鼠骨髓细胞微核试验结果如表 4 所示，各剂量组小鼠的骨髓细胞微核率范围在 0.80 至 1.00，溶剂对照组为 1.20，二者无显著性差异 ( $p > 0.05$ )。而环磷酸胺阳性对照组的微核率与溶剂对照组相比有极显著

性差异 ( $p < 0.01$ )。各剂量的 PCE/NCE 比值均在正常值范围内，且 PCE 占红细胞总数的比例均不少于溶剂对照组的 20%，与溶剂对照组比较也无明显差异。由此，小鼠骨髓细胞微核试验结果表明，参贝咀嚼片在

体内对小鼠骨髓细胞没有致突变作用。

精子畸形类型主要表现以无定形、无钩、香蕉形和胖头为主。小鼠精子畸形试验结果如表 5 所示，高、中、低三个剂量组的精子畸形率分别为 1.65%、1.70%、

1.66%，与溶剂对照组（1.65%）相比，无显著差异（ $p>0.05$ ），而环磷酰胺阳性对照组（6.76%）与溶剂对照组比较，差异性极显著（ $p<0.01$ ）。表明参贝咀嚼片对小鼠精子无致畸性作用。

表 5 小鼠精子畸形试验结果

Table 5 Results of sperm malformation test in mice

剂量/(g/kg)	动物数/只	受检精子数/条	精子畸形类型								精子畸形数/条	精子畸形率 ( $\bar{x}\pm s$ )/%
			无钩	香蕉形	无定形	胖头	尾折叠	双头	双尾			
10.00	10	10 000	30	39	89	6	0	1	0	165	1.65±0.27	
5.00	10	10 000	29	40	92	8	1	0	0	170	1.70±0.30	
2.50	10	10 000	28	41	90	7	0	0	0	166	1.66±0.26	
0.00	10	10 000	29	39	88	8	0	0	1	165	1.65±0.25	
CP/(40 mg/kg)	10	10 000	105	155	368	46	1	0	1	676	6.76±0.58**	

注：与溶剂对照组比较，\*\*表示  $p<0.01$ 。

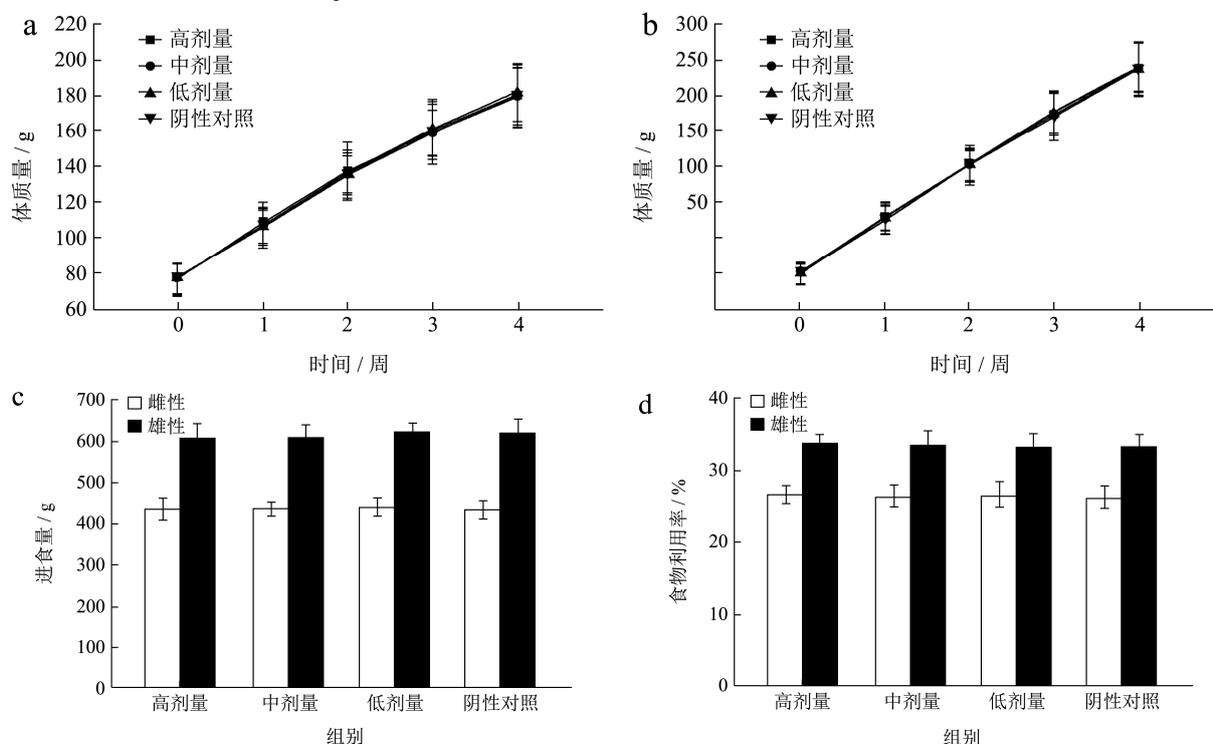


图 4 参贝咀嚼片对大鼠体质量 (a/b)、进食量 (c) 及总食物利用率 (d) 的影响

Fig.4 Effects of Ginseng-Fritillaria chewable tablet on weight (a/b), total food intake (c) and total food utilization (d) of rats

注：与溶剂对照组比较， $p>0.05$ 。表 5 同。

### 2.5.3 大鼠 30 d 喂养试验

在用不同剂量灌胃的 30 d 期间内，各剂量组的大鼠健康状况良好，无中毒症状存在，体质量正常上升且与对照组水平相当。大鼠在试验期内各星期的体质量及该星期的食物利用率如图 4 所示，各剂量组雌性大鼠的总增加质量范围在 102.70~105.40 g，雄性大鼠总增加质量范围在 180.10~181.40 g，与雌、雄对照组（103.00 g、179.30 g）相比，均无显著性差异（ $p>0.05$ ）。另外，各剂量组大鼠的总进食量和食物利用率与对照组相比差异均不显著（ $p>0.05$ ）。上述结果表明试验样品参贝咀嚼片

在大鼠体质量、进食量及食物利用率方面没有明显影响。

参贝咀嚼片对大鼠血液生化指标影响试验结果见图 5，处理组雌、雄性大鼠的白细胞数量、红细胞数量、血红蛋白含量方面与对照组相比，无显著性差异（ $p>0.05$ ）（图 5a~5c）。在骨髓细胞组成比例方面，各处理组小鼠的的粒细胞、淋巴细胞、单核细胞含量比与对照组相比差异亦不显著（ $p>0.05$ ）（图 5d~5e）。由此表明，参贝咀嚼片对大鼠的血液生化指标不存在明显影响。

参贝咀嚼片对大鼠脏器比影响的试验结果显示，不同剂量组雌、雄大鼠的肝/体比、脾/体比、肾/体比

以及雄鼠的睾丸/体比与对照组比较, 差异均不显著 ( $p>0.05$ )。说明参贝咀嚼片对大鼠的脏体没有明显影响。对大鼠肝脏、肾脏、脾脏、胃肠、睾丸、卵巢进行病理学检查, 结果为: 高剂量组大鼠与溶剂对照组中均观察到 1 例雌鼠轻度肝小叶空泡变、2 例雄鼠轻度肝小叶空泡变, 而肝小叶空泡变属于动物自发轻型病变, 未发现各剂量组参贝咀嚼片有引起大鼠组织发生中毒性损伤改变的情况。上述结果表明试验样品参贝咀嚼片没有诱导组织病变的能力。

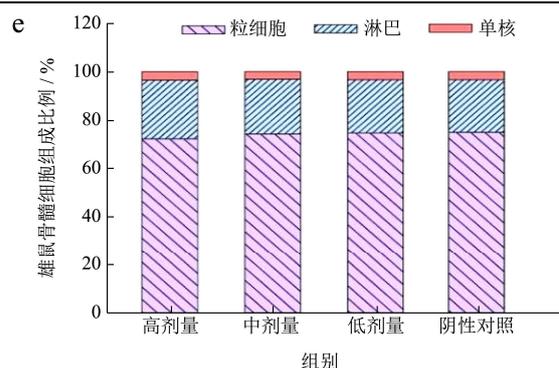
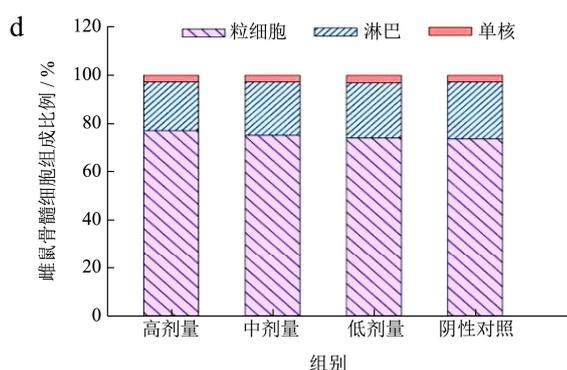
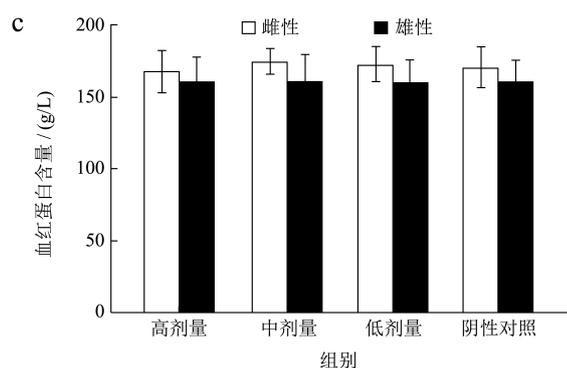
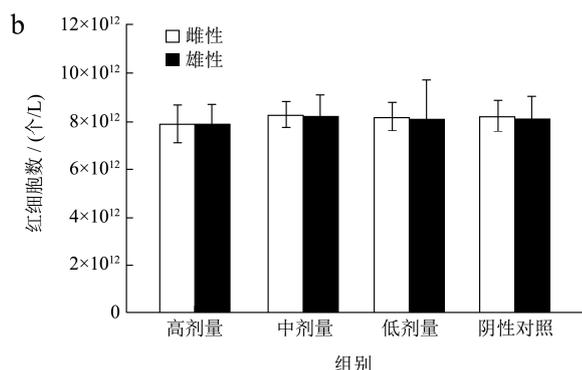
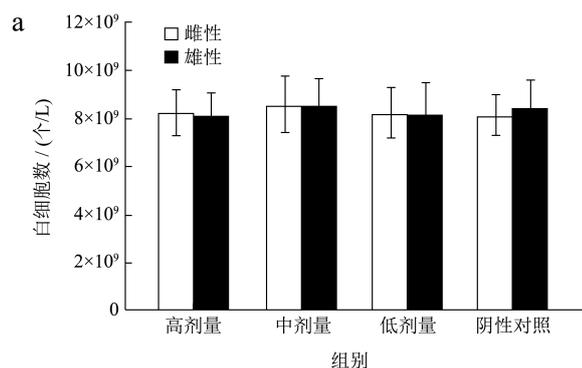


图5 参贝咀嚼片对大鼠血液中白细胞数量 (a)、红细胞数量 (b)、血红蛋白数量 (c)、大鼠骨髓细胞各组分 (d/e) 的影响  
Fig.5 The effects of Ginseng - *Fritillaria* chewable tablet on the number of white blood cells (a), red blood cells (b), hemoglobin (c) and bone marrow cell components (d/e) of rats

### 3 讨论

人参和平贝母均为我国传统中药材, 拥有较广的应用范围。本研究基于对中药传统功效以及现代科学研究数据, 将人参和平贝母组合制成咀嚼片, 为开发相关保健食品提供基础资料。研究表明, 参贝咀嚼片具有增强细胞免疫、体液免疫和单核-巨噬细胞功能的能力。此外, 安全性评价结果显示, 参贝咀嚼片对雌、雄大鼠的急性经口毒性最大耐受剂量均大于 20.00 g/kg (按小鼠体质量计), 属于无毒级。且 Ames 试验和小鼠精子畸形试验结果说明参贝咀嚼片没有致突变和损害生殖系统能力。

人参及其制品的安全性在长期以来实践过程中得到了验证, 李世芬等<sup>[17]</sup>对以人参等为主要原料制得的保健产品参茸杞酒进行了安全性评价, 分别对小鼠急性经口毒性、遗传毒性进行检测, 并进行了 30 d 喂养试验, 各项结果均表明该产品具有食用安全性。现代研究表明, 人参在较大剂量范围内对小鼠具有良好的安全性, 无急性经口毒性和遗传毒性, 在高达 10.16 g/kg 剂量的人参粉剂服用下, 对小鼠的骨髓嗜多染红细胞突变率, 小鼠精子畸形率等指标没有显著性影响<sup>[18]</sup>。但在过高剂量 (20.00 g/kg) 的人参服用情况下, 对小鼠会产生一定的遗传毒性, 小鼠精子畸形率由 13.40% 升至 23.00%, 但未有显著性差异, 且该毒性与阳性组 (59.80%) 相比明显较少<sup>[19]</sup>。

人参具有多种药理功能, 其中包括免疫增强功能。人参的有效活性成分以人参皂苷为代表, 具有较多的生物学功能, 如抗疲劳、增强免疫力等。现有研究表明人参具有通过提高体液免疫、细胞免疫和单核-巨噬细胞功能的方式提高免疫力的作用<sup>[20-23]</sup>。曹坦等<sup>[24]</sup>通过进行小鼠血清溶血素实验发现中剂量 (0.04 g/kg)、

高剂量(0.10 g/kg)的人参不定根可使小鼠半数溶血值(111.06、137.47)较阴性组小鼠(84.74)有极显著增加。人参制品中,人参皂苷含量越高,免疫调节作用越强<sup>[25]</sup>。赵刚等<sup>[26]</sup>发现人参皂苷 Rg<sub>3</sub>(2.00 mg/kg)可将小鼠 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>含量分别从42.14%、26.95%提升至48.63%、34.89%,有效增强并改善了H22荷瘤小鼠的细胞免疫功能。张才军等<sup>[27]</sup>发现人参皂苷 Rg<sub>1</sub>(40 mg/kg)和人参皂苷 Rh<sub>1</sub>(20 mg/kg)均对免疫功能低下小鼠的T淋巴细胞有增殖作用,两组小鼠的T淋巴细胞增殖 OD<sub>570nm</sub>分别为0.18、0.19,与模型对照组(0.13)相比,有极显著提升。本研究中高剂量参贝咀嚼片(1.20 g/kg)处理组小鼠相当于灌胃人参皂苷 Re 1.56 mg/kg。与上述两项研究相比,剂量较低。从本研究结果也显示,该剂量下参贝咀嚼片对机体免疫是一种中等增强。对DTH反应有增强作用而对ConA诱导的淋巴细胞增殖没有显著增强作用(图2),对单核-巨噬细胞功能有增强作用而对NK细胞活性没有显著增强作用(表1)。考虑到功能性食品的开发应兼顾功能性、安全性、经济性,本文中用人参皂苷剂量在合理范围。但在实际生产过程中,人参皂苷不应低于此含量。

相比于以单独人参为主要原料制得的保健食品,参贝咀嚼片对巨噬细胞活性增强效果显著提高<sup>[28]</sup>。本研究中参贝咀嚼片增强细胞免疫、体液免疫和单核-巨噬细胞功能的增强作用与现有学者对人参、平贝母的免疫增强效果研究结果相同,但未发现参贝咀嚼片对ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化能力存在显著影响。而其他学者在利用人体细胞进行体外试验时发现人参皂苷 Rb<sub>1</sub>可以有效地抑制ConA刺激的外周血T淋巴细胞增殖活性,同时能够增加CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T细胞比例,维持Th1/Th2免疫平衡<sup>[29]</sup>,这种差异可能是由研究对象差异或者是咀嚼片中人参皂苷 Rb<sub>1</sub>含量差异导致。

平贝母富含生物碱,且生物碱为其重要活性成分,且其亦具有提高免疫力的药理作用。于晓龙等<sup>[30]</sup>利用流式细胞技术,研究了平贝母醇提物(0.42 g/kg)对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬荧光微球的吞噬百分率的影响,发现其可将吞噬百分率由9.29%提升至14.94%,表明平贝母拥有提高单核/巨噬细胞吞噬能力的作用,有利于增强机体非特异性免疫功能。生物碱是贝母的主要活性成分,宁贝母总生物碱(12.50 mg/kg)给小鼠分组灌胃后,可使小鼠抗体效价由232.38升至319.96,小鼠巨噬细胞的吞噬率和吞噬指数从19.46%、0.43提升至36.61%、0.77,但总生物碱剂量为100 mg/kg组小鼠出现中毒情况,抗体效价显著减少

至134.54<sup>[31]</sup>。周剑侠等<sup>[32]</sup>研究发现,贝母生物碱中的贝母辛含量为33~45 mg/kg时对家兔具有致畸作用。因此,平贝母作为保健食品原料需要平衡有效剂量和安全剂量。考虑到过高含量生物碱的毒性作用,本研究自制的参贝咀嚼片中,总生物碱含量为0.10 mg/g,高剂量组相当于灌胃总生物碱为0.12 mg/kg。在此剂量下,安全性可以得到充分保证,同时发挥平贝母的免疫增强作用。

## 4 结论

以中草药为原料所制得的保健食品通常具有多种保健功效,本研究对以人参和平贝母为主要原料制得的参贝咀嚼片进行了免疫增强功能、安全性进行了系统评价,结果显示其具有增强免疫能力的效果且为无毒级保健食品,为开发相关的保健食品提供了依据,但其增强免疫的具体机制有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] CHEN Lixue, QI Yuli, QI Zeng, et al. A comparative study on the effects of different parts of *Panax ginseng* on the immune activity of cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1096
- [2] Aming N M, Millstine D, Marks L A, et al. Ginseng as a treatment for fatigue: a systematic review [J]. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2018, 24(7): 624-633
- [3] Lee C H, Kim J H. A review on the medicinal potentials of ginseng and ginsenosides on cardiovascular diseases [J]. *Journal of Ginseng Research*, 2014, 38(3): 161-166
- [4] 罗林明,石雅安,姜懿纳,等.人参抗肿瘤作用的有效成分及其机制研究进展[J].*中草药*,2017,48(3):582-596  
LUO Linming, SHI Yanning, JIANG Yina, et al. Advance in components with antitumor effect of *Panax ginseng* and their mechanisms [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(3): 582-596
- [5] 宋齐.人参主要化学成分及皂苷提取方法研究进展[J].*人参研究*,2019,31(4):43-46  
SONG Qi. Advances of the main chemical components and isolation methods in ginseng [J]. *Renshen Yanjiu*, 2019, 31(4): 43-46
- [6] 田静,任雨贺,刘淑莹,等.人参皂苷 Re 对心血管系统的药理作用研究进展[J].*安徽农业科学*,2019,47(6):23-25  
TIAN Jing, REN Yuhe, LIU Shuying, et al. Advances in pharmacological effects of ginsenoside Re on cardiovascular system [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2019,

- 47(6): 23-25
- [7] Huang Y C, Chen C T, Chen S C, et al. A natural compound (ginsenoside Re) isolated from *Panax ginseng* as a novel angiogenic agent for tissue regeneration [J]. *Pharmaceutical Research*, 2005, 22(4): 636-646
- [8] Quan H Y, Yuan H D, Jung M S, et al. Ginsenoside Re lowers blood glucose and lipid levels via activation of AMP-activated protein kinase in HepG2 cells and high-fat diet fed mice [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2012, 29(1): 73-80
- [9] Lee S, Kim M G, Ko S K, et al. Protective effect of ginsenoside Re on acute gastric mucosal lesion induced by compound 48/80 [J]. *Journal of Ginseng Research*, 2014, 38(2): 89-96
- [10] 朱林. 贝母药材中生物碱及核苷类成分的定量分析研究.[D].合肥:安徽中医药大学,2018  
ZHU Lin. Quantitative analysis of alkaloids and nucleotides in medicinal herbs of fritillaria [D]. Hefei: Anhui University of Traditional Chinese Medicine, 2018
- [11] 刘宁. 平贝母的研究进展[J].黑龙江医药,2006,19(6):496-497  
LIU Ning. Research progress of Pingbeimu [J]. *Heilongjiang Medical Journal*, 2006, 19(6): 496-497
- [12] 李萍,季晖,徐国钧,等. 贝母类中药的镇咳祛痰作用研究[J]. 中国药科大学学报,1993,24(6):360-362  
LI Ping, JI Hui, XU Guojun, et al. Studies on the antitussive and expectorant effects of Chinese drug beimu [J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 1993, 24(6): 360-362
- [13] 国家市场监督管理总局. 保健食品功能评价方法(2020年版)(征求意见稿).[EB/OL].(2020.11.24).[https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202011/t20201124\\_323851.html](https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202011/t20201124_323851.html)  
State administration for market regulation. Methods for Functional Evaluation of Health Food (2020 Edition) (Draft for Comments) [EB/OL]. (2020.11.24). [https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202011/t20201124\\_323851.html](https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202011/t20201124_323851.html)
- [14] 国家市场监督管理总局. 保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020年版)[EB/OL].(2020.10.16).[https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/tssps/202010/t20201031\\_322810.html](https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/tssps/202010/t20201031_322810.html)  
State administration for market regulation. Technical Guidelines for Toxicological Testing and Evaluation of safety of Health Food and its Raw materials (2020 Edition) [EB/OL]. (2020.10.16). [https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/tssps/202010/t20201031\\_322810.html](https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/tssps/202010/t20201031_322810.html)
- [15] 方笋,王萌,赵晓娟,等. 芍药苷对迟发型变态反应小鼠细胞免疫功能的影响[J].中国药理学通报,2008,24(4):444-448  
FANG Sun, WANG Meng, ZHAO Xiaojuan, et al. Effects of Shaoqiduogan on cellular immunity in mice with delayed-type hypersensitivity [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2008, 24(4): 444-448
- [16] 刘梁,孙维矿,赵玲,等.米糠多糖的免疫增强作用[J].食品研究与开发,2014,35(22):24-27,28  
LIU Liang, SUN Weikuang, ZHAO Ling, et al. The effect of immune enhancement of rice bran polysaccharide [J]. *Food Research and Development*, 2014, 35(22): 24-27, 28
- [17] 李世芬,环飞,胡奇,等.参茸杞酒安全性评价及对小鼠免疫功能影响[J].食品科技,2019,44(9):77-81  
LI Shifen, HUAN Fei, HU Qi, et al. Safety assessment and effect on immune function in mice of ginseng-antler-wolfberry liquor [J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(9): 77-81
- [18] 孙兰,高峰,吴晓刚,等.人参粉剂安全性及遗传毒性研究[J].职业与健康,2011,27(22):2525-2527  
SUN Lan, GAO Feng, WU Xiaogang, et al. Study for security and genetic toxicity of ginseng powder [J]. *Occupation and Health*, 2011, 27(22): 2525-2527
- [19] 杜迎刚,苗青.人参安全食效性研究[J].安徽农业科学,2008,36(25):10954-10955  
DU Yinggang, MIAO Qing. Study on food safety of *Panax ginseng* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(25): 10954-10955
- [20] 潘维华,刘晓颖,王英平,等.人参皂苷对小鼠脾淋巴细胞和腹腔巨噬细胞免疫活性的影响[J].特产研究,2011,33(1):16-19  
PAN Weihua, LIU Xiaoying, WANG Yingping, et al. Ginsenoside effects on splenic lymphocytes and peritoneal macrophage' immunological activity in mice [J]. *Special Wild Economic Animal Plant Research*, 2011, 33(1): 16-19
- [21] 付萌,洪铁.人参地黄桑葚片对小鼠免疫功能的影响[J].人参研究,2016,28(6):9-12  
FU Meng, HONG Tie. The effect of ginseng rehmannia mulberry tablets on immune function in mice [J]. *Renshen Yanjiu*, 2016, 28(6): 9-12
- [22] 曹丽,顾学文,张天一,等.人参皂甙对小鼠腹腔巨噬细胞活性的影响及其作用机制初步探讨[J].中国免疫学杂志,2011,27(5):423-425,433  
CAO Li, GU Xuwen, ZHANG Tianyi, et al. Effects of ginsenoside on activity of mice peritoneal macrophage and initial study on mechanism of its function [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2011, 27(5): 423-425, 433

- [23] 赵彧,万志强,张荣榕,等.复方人参免疫增强方配比优选及其对小鼠的免疫活性和急性毒性研究[J].中国药房,2020,31(2):196-201  
ZHAO Yu, WAN Zhiqiang, ZHANG Rongrong, et al. Optimization of composition proportion of compound ginseng immune-enhancing formula and study of its immunomodulatory activity and acute toxicity on mice [J]. China Pharmacy, 2020, 31(2): 196-201
- [24] 曹坦,吴俊罡,孙晓琳.人参不定根的免疫调节作用研究[J].饮食保健,2021,30:138-139  
CAO Tan, WU Jungang, SUN Xiaolin. Study on immune regulation of adventitious roots of ginseng [J]. Diet Health, 2021, 30: 138-139
- [25] 王卫霞,王谦.人参皂苷的免疫调节作用及其应用[J].中华中医药杂志,2005,20(4):234-236  
WANG Weixia, WANG Qian. Immune regulatory action of ginsenoside and its application [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2005, 20(4): 234-236
- [26] 赵刚,葛信国.人参皂甙 Rg3 对 H22 荷瘤小鼠免疫微环境的影响[J].实用中医内科杂志,2012,23(17):7-9  
ZHAO Gang, GE Xinguo. Panaxoside Rg3 H22 mice immune to a tumor-burdened micro environmental impact [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2012, 23(17): 7-9
- [27] 张才军,郭民,柳波,等.人参皂苷 Rh1 对免疫功能降低小鼠的免疫调节作用研究[J].昆明医学院学报,2009,30(11):51-54,58  
ZHANG Caijun, GUO Min, LIU Bo, et al. Immunoregulating effects of ginsenoside Rh1 on immunosuppressive mice model [J]. Journal of Kunming Medical University, 2009, 30(11): 51-54, 58
- [28] 柴玮杰,赵博,王瑞翀,等.人参精口服液增强免疫力功能的探讨[J].医药前沿,2012,24:92-93  
CHAI Weijie, ZHAO Bo, WANG Ruichong, et al. Study on enhancing immunity function of ginseng oral liquid [J]. Yiyao Qianyan, 2012, 24: 92-93
- [29] 杨帆,沈俊逸,蔡辉.人参皂苷 Rb1 对系统性红斑狼疮患者外周血 T 淋巴细胞体外活化的影响[J].实用药物与临床,2021,24(5):418-422  
YANG Fan, SHEN Junyi, CAI Hui, et al. Effect of ginsenoside Rb1 on activation of serum T lymphocytes *in vitro* in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 2021, 24(5): 418-422
- [30] 于晓龙,杨建玲,朱乐,等.平贝母醇提取物对小鼠免疫功能的影响[J].延边大学学报(自然科学版),2015,41(1):85-88  
YU Xiaolong, YANG Jianling, ZHU Le, et al. The effect of the ethanol extract of *Fritillaria ussuriensis* maxim on mice immune function [J]. Journal of Yanbian University (Natural Science), 2015, 41(1): 85-88
- [31] 李阳,周娅,佟书娟,等.宁夏贝母总生物碱影响小鼠免疫功能的初步研究[J].宁夏医学院学报,1997,19(3):1-4  
LI Yang, ZHOU Ya, TONG Shujuan, et al. A preliminary study of the effects of total alkaloid from *F. taitaiensis* Lon immuno-function in mice [J]. Journal of Ningxia Medical College, 1997, 19(3): 1-4
- [32] 周剑侠,康露,毕京博,等.贝母药材在中药和保健食品中使用的安全性探讨[J].上海中医药杂志,2006,40(4):66-67  
ZHOU Jianxia, KANG Lu, BI Jingbo, et al. The safety discussion of use bulbous fritillariae in traditional Chinese medicine and functional foods [J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2006, 40(4): 66-67