

地椒的毒理学安全性评价

路立峰¹, 沈伟², 蒋雨来¹, 端贺魁³, 张云端³, 牟艳华³

(1. 山东药品食品职业学院药品技术研发中心, 山东威海 264210) (2. 山东中医药高等专科学校科研处, 山东烟台 264199) (3. 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院, 辽宁沈阳 110016)

摘要: 为评价地椒的食用安全风险, 本文研究了地椒提取物的急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性, 采用国家保健食品检验和技术评价规范标准中的急性毒性试验、Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验和经口给药 30 d 喂养试验。发现了分别给予昆明种小鼠、SD 大鼠最大耐受剂量 60 g/kg、30 g/kg BW 未见中毒及死亡。TA97a、TA98、TA100、TA102 和 TA1535 试验菌株在 5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、1581 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、158.1 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 5 个剂量回变突变菌落数均低于阴性对照组的 2 倍。各剂量组精子畸形率和阴性对照组比较, 无显著性差异 ($p>0.05$); 除低剂量组外, 高、中剂量组微核发生率均发生显著性变化 ($p<0.01$)。中剂量组对雄性大鼠体重呈现抑制作用, 而对雌性大鼠体重呈现增长作用, 同时能提高动物食物利用率; 血液中 RBC 和 HGB 显著升高, HCT、MCV、MCHC、RDW-CV 有所升高; 血生化检查指标与对照组对比, 能显著降低雌鼠 AST, 增加雌性动物的 CHO、TG 水平, 对雌雄动物 UREA、GLU 水平明显降低。除肝、肾外, 其他器官未见明显组织病理学改变。表明, 急性毒性试验、Ames 试验无明显影响; 对小鼠精子无致畸作用。受试剂量范围内, 地椒对骨髓细胞微核产生有一定毒性; 地椒具有潜在的降血糖活性; 地椒对雄性动物性激素系统、造血系统、肌肉功能, 具有潜在激活作用; 高剂量地椒对大鼠肝肾有一定毒性。结果证明地椒在一定剂量范围内安全可靠, 本试验为地椒安全食用提供了毒理学的安全性评价依据。

关键词: 地椒; 安全性评价; 急性毒性; 遗传毒性; 亚急性毒性

文章编号: 1673-9078(2020)05-267-276

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.036

Toxicological Safety Evaluation of *Thymus quinquecostatus* Celak

LU Li-feng¹, SHEN Wei², JIANG Yu-lai¹, DUAN He-kui³, ZHANG Yun-duan³, MOU Yan-hua³

(1. Research Center of Pharmaceutical Techniques, Shandong Provincial Vocational College of Medicine and Food, Weihai 264210, China)

(2. Scientific Research Department, Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199, China)

(3. School of Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: To provide toxicological evaluation basis for the safe consumption of *Thymus quinquecostatus* Celak, the acute toxicity, genotoxicity and subacute toxicity of *T. quinquecostatus* Celak extract (Tq-E) was conducted in the present study. The acute toxicity test, Ames test, mouse bone marrow cell micronucleus test, mouse sperm abnormality test and thirty-day drug feeding test were used according to the National Health Food Test and Technical Evaluation Standard. The results showed that no poisoning or death was found after the administration in the maximum doses of 60g/kg for Kunming mice and 30g/kg for SD rats. The number of mutant colonies of TA97a, TA98, TA100, TA102 and TA1535 test strains at 5 doses of 5000, 1581, 500, 158.1 and 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ were all 2 times lower than that of the negative control group. There was no significant difference in the sperm deformity rate between the different dose groups and the negative control group ($p>0.05$). Except for the low dose group, the incidence of micronuclei in the high and middle dose groups were significantly changed ($p<0.01$). The body weight of male rats of the middle dose group was inhibited, but the weight of female rats increased, and the food utilization rate of animals increased. RBC and HGB in the blood increased significantly, while HCT, MCV, MCHC and RDW-CV increased a little. The results of blood

引文格式:

路立峰, 沈伟, 蒋雨来, 等. 地椒的毒理学安全性评价[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 267-276

LU Li-feng, SHEN Wei, JIANG Yu-lai, et al. Toxicological safety evaluation of *Thymus quinquecostatus* Celak [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 267-276

收稿日期: 2019-10-23

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0549); 威海市科技发展计划项目 (2017GNS14); 山东药品食品职业学院院级课题 (2018Y02); 辽宁省自然科学基金 (20170540853)

作者简介: 路立峰 (1980-), 男, 副教授, 研究方向: 中药质量控制研究

biochemical examination indices showed that AST decreased significantly, CHO and TG levels increased in female mice, and the levels of UREA and GLU decreased significantly in both male and female mice, compared with the control group. No obvious histopathological changes was observed in other organs except liver and kidney. Acute toxicity test and Ames test had no significant effects, and had no teratogenic effects on mouse spermatozoa. Within the range of test dose, Tq-E had certain toxicity to micronucleus of bone marrow cells, and had potential hypoglycemic activity. Tq-E might activate the sex hormone system, hematopoietic system and muscle function of male animals, and the high dose of Tq-E had certain toxicity to the liver and kidney of rats. The results demonstrated that Tq-E is safe and reliable in a certain dose range, and this experiment will provide toxicological evaluation data for the safe consumption of *T. quinquecostatus* Celak.

Key words: *Thymus quinquecostatus* Celak; safety evaluation; acute toxicity; genotoxicity; subacute toxicity

地椒 (*Thymus quinquecostatus* Celak), 又名百里香、五脉地椒, 来源于唇形科百里香属植物地椒的地上部分。具有祛风止咳, 祛风健脾, 利湿通淋之功, 用治胃痛、感冒、牙痛、头痛、咳嗽、小便涩痛、呕吐泄泻等病^[1]。曾收录于 1977 年版《中华人民共和国药典》一部, 现被山西、甘肃、陕西、北京等省中药材标准及中药炮制规范收载。

在我国, 地椒有着悠久的药食两用历史, 具有较高的经济价值, 常作为重要的香辛料^[2]和天然药物应用。地椒首载于宋代《嘉佑本草》, 曰“味辛性温, 有小毒, 主淋尿肿痛”; 元代《居家必用事类全集》中有“作香料被食用”的记载; 明代《本草纲目》云: “土人以煮羊肉食, 香美”。现在甘肃、陕西等省, 用地椒烹调牛、羊肉以增鲜; 或将地椒草晾干代茶饮以保健。在山东胶东, 与鸡蛋同炒以治关节炎; 在鲁南、鲁中, 多编成瓣状以驱蚊虫或泡茶作饮以治感冒、咳嗽。同时, 地椒亦是《圣济总录》汤脚散、滑石散等诸多方剂的主要组成药物。可见, 地椒已作为现代茶饮、日用品、康养产品的重要原料, 产生了较大的市场价值。鉴于其开发使用的广阔前景和对产品的多样化需求, 亟待开发并形成多种高附加值的产品是地椒产业高质量发展发展的趋势。但是, 目前对地椒的研究尚不够深入, 存在着药效物质不清、作用机制不明、毒理学研究和安全性评价缺乏的问题。因此, 开展毒理学试验和安全性评价研究, 将有助于地椒的食用安全评价与风险评估。

本课题组在前期研究基础^[3,4]上, 针对国内未见地椒毒理学资料报道的不足, 开展地椒急性毒性试验、遗传毒性试验和亚急性毒性研究, 对其进行食品安全风险评估, 保障其药用及食用的安全, 以期地为地椒新资源食品的深度挖掘与开发提供安全性理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

材料来源: 地椒采集于山东省威海市文登区界石

镇, 采集新鲜的地椒, 除去泥沙和地下部分, 洗净, 晾干。取适量地椒, 加 8 倍量水, 水蒸气蒸馏, 收集馏出液, 分取挥发性成分, 备用, 同时, 分取提取液; 残渣加 5 倍量水, 煎煮, 合并两次提取液, 浓缩至 1 mL 相当于 1.5 g 药材, 加入地椒挥发性成分, 混匀, 即得地椒提取物, 备用。临用前, 超声混匀, 立即灌胃给药。

试剂来源: TA97a、TA98、TA100、TA102 和 TA1535, 由北京协和建昊医药技术开发有限责任公司提供; 敌克松 (Dexon) (AccuStandard, 批号: 4030165-01)、叠氮化钠 (NaN₃) (Sigma-Aldrich, 批号: MKBF9998V)、2-氨基苄 (2-AF) (Aladdin, 批号: H1511011)、1,8-二羟基蒽醌 (Dorbane) (Sigma-Aldrich, 批号: WXBB0392)、2-氨基蒽 (2-AA) (Sigma-Aldrich, 批号: STBD3302V)、环磷酰胺注射液 (Baxter Oncology GmbH, 批号: 8D234A); 小牛血清 (四季青, 批号: 11011-8615)、AO 染液 (Sigma-Aldrich, 批号: A6014)、甲醇 (天津大茂, 批号: 20171101)、生理盐水 (沈阳志鹰, 批号: 180407) 以及 1/15 mol/L 磷酸盐缓冲液, 自制。

实验仪器: 分析天平 (AL104-IC 型), Mettler Toledo 公司; 荧光显微镜 (CKX41 型), 日本 OLYMPUS 公司; 全自动血液生化分析仪 (7600 型), 日本 HITACHI 公司; 显微镜 (XD-101 型), 南京光学仪器厂; 可调式移液器 (Thermo), 芬兰 Finnpiptette 公司; 5% CO₂ 培养箱 (NU-4750E 型), 美国 NUAIRE 公司; 空气净化操作台 (BCN-1360B 型), 哈东联; 台式离心机 (80-2 型), 上海安亭科学仪器厂; 冰冻切片机 (NX50 型), 美国 Thermo 公司。

1.2 试验动物

受试动物为昆明种小鼠、SD 大鼠, 由沈阳药科大学动物中心购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 动物合格证号: SCXK(京)2014-0004, 等级 SPF, 试验动物饲养于沈阳药科大学试验动物中心, 等级 SPF, 合格证号: SYXK(辽)2014-0004。

1.3 方法

1.3.1 急性毒性试验

选取符合国家保健食品检验与评价技术规范要求的 SPF 级昆明种小鼠、SD 大鼠各 50 只,雌雄各半,采用最大耐受试验法试验。将昆明种小鼠、SD 大鼠分别分组,同组同性,每组 5 只,禁食过夜,按 0.4 mL/10 g BW 给药,给予小鼠 60 g/kg 地椒提取物灌胃,一日 2 次,每次间隔 4 h;给予 SD 大鼠 30 g/kg 地椒提取物灌胃,给药 2 h 后恢复饮食。观察 7 d 内体重、皮肤、活动、摄食、饮水、排便、呼吸变化及中毒表现和死亡情况,并确定昆明种小鼠、SD 大鼠的经口急性最大耐受量。

1.3.2 遗传毒性试验

1.3.2.1 Ames 试验

采用平板掺入法,以 TA97a、TA98、TA100、TA102 和 TA1535 做试验菌株,进行染毒后,培养 48 h。加 S9 (+S9) 与不加 S9 (-S9) 活化系统条件下,以 5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、1581 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、158.1 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 受试物,测定菌落数及菌落个体值。

1.3.2.2 精子畸形试验

选取体重 25~35 g SPF 级性成熟雄性昆明种小鼠 30 只,适应环境 3 d 后进行试验。小鼠随机分为 5 组,每组 6 只。设 2.50 g/kg、5.00 g/kg、10.00 g/kg 3 个剂量组,60 mg/kg 环磷酰胺阳性对照组和 10 g/kg 无菌水阴性对照组,给药体积 1 mL/100 g,每天 1 次,连续灌胃 5 d。在首次给受试物后的第 35 d,处死动物,取两侧附睾精子滤液按常规制片、镜检。每鼠计数 1000 个结构完整的精子,计算精子畸形发生率,结果采用秩和检验进行统计分析。

1.3.2.3 骨髓细胞微核试验

取 7~12 周龄,体重 25~30 g 昆明种小鼠,共 50 只,雌雄各半,随机分为五组,分别为 10.00 g/kg、5.00 g/kg、2.50 g/kg 高中低 3 个剂量组,40.00 mg/kg 环磷酰胺阳性对照组和阴性对照组,按 20 mL/kg 给药,剂量组经口灌胃,阳性对照组经腹腔注射,采用 30 h 给受试物法,即两次给受试物间隔 24 h,第二次给受试物后 6 h,颈椎脱臼处死动物。

取小鼠股骨,减去股骨两端,每条股骨用 1 mL 生理盐水冲洗骨髓腔,每只小鼠用一个离心管。将骨髓冲洗液 1000 r/min 离心 5 min,弃去大部分上清液,用小牛血清冲洗细胞,使细胞均匀分散开来,吸取两滴在载玻片上,涂片,自然干燥,甲醇固定 15 min,

晾干,AO 染液染色 5 min,自来水轻轻冲去多余染液,晾干。选择细胞完整、分散均匀,着色适当区域,在荧光显微镜下观察、计数,统计微核发生率,并以千分率来表示。

1.3.3 30 d 喂养试验

SD 大鼠 80 只,雌雄各半,随机分设 1.25 g/kg、2.50 g/kg、5.00 g/kg 三个剂量组和阴性对照组,分别给予灌胃,每天一次,连续 30 d。每日观察大鼠一般行为、中毒症状及死亡情况;每周称两次体重,并及时换算灌胃剂量。试验结束时,摘眼球取血,检测血液学指标;分离血清,检测大鼠生化指标;取肝、肾、脾、胸腺、卵巢、睾丸等器官称重,计算各脏器指数(器官重量/体重),并进行病理学检查,观察脏器组织学改变。

1.3.4 统计分析

用 SPSS 系统软件进行分析,计量资料用均数标准差或 t 检验表示,各组之间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 急性毒性试验

在预试验基础上,确定昆明种小鼠的最大耐受量为 60 g/kg。给药后,小鼠行为、外观等无改变,解剖后个别鼠脾体积大,其他未见明显变化。小鼠灌胃地椒提取物后 $\text{LD}_{50} > 60 \text{ g/kg}$,属于无毒物质。根据小鼠的经口急性毒性试验,设定 SD 大鼠最大耐受量为 30 g/kg BW。给药后,大鼠行为无改变,解剖后未见其他明显变化。

2.2 遗传毒性试验

2.2.1 Ames 试验

在预试验中,设置四个剂量组、阴性对照组和阳性对照组,每个菌株 2 个平行皿,配制 5 种不同浓度的染毒溶液,进行 -S9 和 +S9 处理,结果显示,地椒提取物对五株试验菌株的试验中,在培养开始前与培养结束后均无沉淀产生;各剂量组回变菌落数与阴性对照组相比,无明显差异($p > 0.05$),故本试验选择 5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 为最高剂量组。无论代谢活化与否,所有试验菌株各剂量回变突变菌落数均低于阴性对照组的 2 倍,且不存有量效关系。结果表明,在本试验条件下,地椒提取物对试验菌株呈阴性,无致突变性。

表1 菌落数统计值表

Table 1 Statistical value of colony number ($\bar{x} \pm s$)

菌株名称	剂量/对照	-S9		+S9		菌株名称	剂量/对照	-S9		+S9	
		均数±标准差	均数±标准差	均数±标准差	均数±标准差			均数±标准差	均数±标准差		
TA97a	阴性对照	177.00±9.17	186.00±11.79	TA102	阴性对照	246.33±6.03	244.33±5.13				
	5000 µg/皿	173.33±9.29	200.33±21.20		5000 µg/皿	232.00±27.84	176.00±6.00				
	1581 µg/皿	172.00±25.36	179.00±15.72		1581 µg/皿	224.00±25.36	196.33±17.21				
	500 µg/皿	193.33±16.04	189.33±30.57		500 µg/皿	228.00±21.63	215.33±11.59				
	158.1µg/皿	193.00±20.66	220.00±34.07		158.1µg/皿	232.33±22.03	200.00±13.53				
	50 µg/皿	191.67±11.93	201.67±7.57		50 µg/皿	235.67±12.58	219.33±21.55				
	阳性对照	3218.67±496.09	1010.00±114.07		阳性对照	952.00±61.29	992.67±127.03				
TA98	阴性对照	20.33±7.51	28.33±7.57	TA1535	阴性对照	13.00±2.65	17.67±7.02				
	5000 µg/皿	21.00±1.00	20.33±2.08		5000 µg/皿	10.33±2.52	15.00±2.65				
	1581 µg/皿	18.67±4.04	29.00±5.00		1581 µg/皿	11.67±2.31	20.00±1.73				
	500 µg/皿	24.67±3.21	25.67±4.04		500 µg/皿	11.67±2.52	14.33±0.58				
	158.1µg/皿	20.00±5.00	30.67±9.45		158.1µg/皿	13.00±3.46	16.00±2.00				
	50 µg/皿	24.67±2.52	30.67±5.13		50 µg/皿	14.33±2.89	18.33±5.51				
	阳性对照	830.33±71.00	912.00±67.56		阳性对照	324.00±11.53	350.00±75.02				
TA100	阴性对照	145.67±21.55	142.00±11.14	TA1535	阴性对照	13.00±2.65	17.67±7.02				
	5000 µg/皿	121.67±0.58	126.67±17.04		5000 µg/皿	10.33±2.52	15.00±2.65				
	1581 µg/皿	128.33±11.06	136.33±9.50		1581 µg/皿	11.67±2.31	20.00±1.73				
	500 µg/皿	124.33±19.66	146.33±17.04		500 µg/皿	11.67±2.52	14.33±0.58				
	158.1µg/皿	126.00±13.00	140.67±17.24		158.1µg/皿	13.00±3.46	16.00±2.00				
	50 µg/皿	133.67±16.50	143.67±21.03		50 µg/皿	14.33±2.89	18.33±5.51				
	阳性对照	519.33±70.89	684.67±95.21		阳性对照	324.00±11.53	350.00±75.02				

表2 菌落数个体值

Table 2 The individual value of colony number

菌株名称	剂量/对照	-S9			+S9		
		1	2	3	1	2	3
TA97a	阴性对照	175	169	187	173	196	189
	5000 µg/皿	169	167	184	223	181	197
	1581 µg/皿	143	190	183	190	161	186
	500 µg/皿	210	192	178	160	221	187
	158.1 µg/皿	170	199	210	205	259	196
	50 µg/皿	178	200	197	207	205	193
	阳性对照	0.5 mg/mL Dexon			0.2 mg/mL 2-AF		
		2728	3208	3720	1132	906	992
TA98	阴性对照	29	16	16	25	23	37
	5000 µg/皿	21	20	22	22	18	21
	1581 µg/皿	18	23	15	34	29	24
	500 µg/皿	27	26	21	30	22	25
	158.1 µg/皿	25	20	15	20	38	34
	50 µg/皿	22	25	27	35	25	32
	阳性对照	0.5 mg/mL Dexon			0.2 mg/mL 2-AF		
		759	831	901	872	990	874

转下页

接上页

TA100	阴性对照	144	125	168	152	144	130
	5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$	122	121	122	143	128	109
	1581 $\mu\text{g}/\text{ml}$	118	140	127	146	136	127
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	112	114	147	145	164	130
	158.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	141	119	118	144	156	122
	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	134	150	117	145	164	122
	阳性对照	438	568	552	692	776	586
TA102	阴性对照	247	252	240	243	240	250
	5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$	202	237	257	170	176	182
	1581 $\mu\text{g}/\text{ml}$	213	206	253	184	216	189
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	210	222	252	203	217	226
	158.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	231	255	211	186	213	201
	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	224	249	234	195	227	236
	阳性对照	882	996	978	974	876	1128
TA1535	阴性对照	10	14	15	25	17	11
	5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10	8	13	12	17	16
	1581 $\mu\text{g}/\text{ml}$	9	13	13	21	21	18
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	12	14	9	14	15	14
	158.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	17	11	11	18	14	16
	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	16	16	11	24	13	18
	阳性对照	315	337	320	384	264	402

2.2.2 精子畸形试验

在本试验体系下，阴性对照组精子畸形率为41.03%，高剂量组精子畸形率为37.86%，中剂量组为39.91%，低剂量组为37.75%，和阴性对照组比较，差异无显著性 ($p>0.05$)，阳性对照组小鼠精子畸形率45.78%，略高于阴性对照组。试验结果提示，在试验剂量范围内，地椒提取物对小鼠精子无致畸作用。

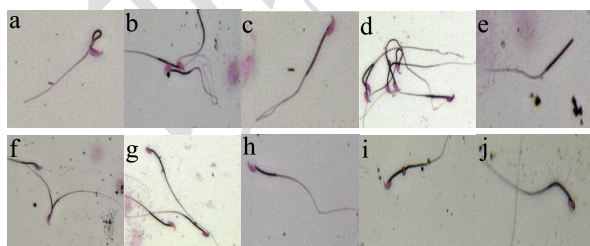


图1 各组对小鼠精子畸形影响图

Fig.1 Effect of each group on sperm deformity in mice

注：图a 颈弯曲；图b 胖头；图c 尾折叠；图d 双头；图e 无头；图f 双尾；图g 无钩；图h 香蕉头；图i 颈部赘生物，图j 无定型。

表3 各组对小鼠精子畸形结果

Table 3 Results of sperm malformation in mice in each group (%)

畸形	高	中	低	阳性对照	阴性对照
无钩	4.40	3.07	3.73	4.10	2.96
无定型	2.35	1.99	2.01	2.73	1.94
胖头	0.06	0.07	0.08	0.00	0.24
香蕉头	0.40	0.18	0.45	0.00	0.00
双头	0.04	0.00	0.03	0.08	0.03
双尾	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03
尾折叠	1.91	2.06	0.98	1.37	0.89
颈部赘生物	1.86	2.24	2.17	1.69	1.53
颈弯曲	21.30	22.96	19.78	27.23	26.25
无头	5.51	7.34	8.53	8.59	7.15
畸形率	37.86	39.91	37.75	45.78	41.03
正常率	62.14	60.09	62.25	54.22	58.97

2.2.3 骨髓细胞微核试验

由表4可见，各组均能产生微核，与阴性对照组3.93%相比较，除低剂量组外，高剂量组和中剂

量组均发生显著性变化 ($p<0.01$); 且阳性对照组小鼠微核率与阴性对照组比较, 存在显著性差异 ($p<0.01$)。表明, 在受试剂量范围内, 地椒提取物对骨髓细胞微核产生有一定毒性, 提示支持有致染色体畸变可能。

表4 地椒提取物对小鼠骨髓微核形成的影响

Table 4 Effect of *Thymus quinquecostatus* Celak extract on micronucleus formation of bone marrow in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	微核/%
阴性对照组	3.93±2.40
高剂量组 (10.00 g/kg)	5.04±3.30**
中剂量组 (5.00 g/kg)	7.30±4.29**
低剂量组 (2.50 g/kg)	2.58±2.70
环磷酰胺 (40 mg/kg)	6.60±2.52**

注: 与阴性对照组比较, ** $p<0.01$ 。

2.3 30 d 喂养试验

试验期间, SD 大鼠灌胃后与灌胃前相比较,

表5 地椒提取物对大鼠体重的影响 (g)

Table 5 Effect of *Thymus quinquecostatus* Celak extract on body weight of rats (n=10)

性别	组别	第0周	第1周	第2周	第3周	第4周
雄	对照	140.30±5.59	196.30±9.78	247.50±11.10	284.20±15.48	321.20±16.81
	1.25 g/kg	142.10±3.72	193.60±11.19	242.0±13.09	282.20±15.16	311.80±18.41
	2.50 g/kg	136.80±2.85	173.10±6.77***	222.60±9.59***	265.70±9.88**	295.40±13.12**
	5.00 g/kg	130.20±11.87*	183.30±12.46*	228.40±11.94**	270.90±17.62	304.60±18.98
雌	对照	117.90±4.00	147.30±7.33	169.30±6.67	197.40±9.52	214.20±7.76
	1.25 g/kg	115.50±2.40	156.60±5.32**	181.80±6.40**	206.50±9.81	221.80±12.85
	2.50 g/kg	113.00±4.92*	155.80±3.89**	181.50±6.38**	206.20±6.74*	224.50±8.02*
	5.00 g/kg	117.10±3.76	153.90±6.43*	181.00±9.15***	207.70±9.78*	224.20±13.16

注: 与阴性对照组比较, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ 。

表6 不同浓度地椒提取物对大鼠食物利用率的影响

Table 6 Effect of different concentrations of *Thymus quinquecostatus* Celak extract on food utilization rate of rats (n=10, $\bar{x} \pm s$)

性别	组别	食物利用率/%
雄	对照	14.49±4.52
	1.25 g/kg	10.17±5.55
	2.50 g/kg	17.29±1.30
	5.00 g/kg	12.07±4.02
雌	对照	11.87±5.36
	1.25 g/kg	10.19±2.32
	2.50 g/kg	14.74±0.06
	5.00 g/kg	13.28±0.77

在精神、饮食活动、呼吸等方面, 无明显差异; 与对照组大鼠相比, 各组大鼠无死亡, 活跃好动, 皮毛光滑, 大小便正常、未见稀便, 无异常分泌物, 各种观测指标均良好。

2.3.1 对SD大鼠体重、食物利用率的影响

SD大鼠在0、1、2、3、4周体重变化(表5)显示, 雌雄各组大鼠试验组与对照组存有显著性差异。表明, 地椒提取物对雄性大鼠体重增长有一定抑制作用, 中剂量组较明显, 体重由给药前136.80 g增长到295.40 g; 对雌性大鼠体重增长, 中剂量组增重作用最明显, 由给药前113.00 g增长至224.50 g, 显著高于对照组214.20 g ($p<0.05$); 低剂量组和高剂量组增重作用可能逐渐耐受, 增重减缓。

根据第4周食物利用率(表6)结果, 雌雄大鼠中剂量组的食物利用率大于阴性对照组, 低剂量组食物利用率可能低于对照组, 表明, 地椒提取物可能影响了动物食物利用率。

2.3.2 对SD大鼠血液学指标和血液生化学指标的影响

大鼠血液学指标检查(表7)表明, 红细胞(RBC)和血红蛋白(HGB)显著升高, 红细胞相关指标红细胞压积(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞分布宽度(RDWCV)有所升高, 对于雄性大鼠血小板相关指标平均血小板体积(MPV)和血小板分布宽度(PDW)略有差异 ($p<0.05$), 无临床意义, 对雌性动物血小板相关指标无影响。表明, 地椒提取物可能提高红细胞数量和血红蛋白水平, 对其它血细胞影响较小。

表 7 不同浓度地椒提取物对大鼠血液学指标的影响

Table 7 Effects of *Thymus quinquecostatus* Celak on blood cytology in rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	WBC/ (10 ⁹ /L)	NEUT/ (10 ⁹ /L)	LYMPH/ (10 ⁹ /L)	NEUT/%	LYMPH/%	MONO/%	EOS/%
雄	对照	5.23±1.61	0.70±0.24	4.53±1.57	14.06±6.11	85.79±6.12	0.02±0.04	0.05±0.08
	1.25 g/kg	5.00±1.69	0.71±0.35	4.28±1.65	14.74±7.91	85.00±7.90	0.02±0.04	0.13±0.27
	2.50 g/kg	7.50±3.70	1.20±0.99	6.29±3.65	17.32±15.44	82.42±15.39	0.00±0.00	0.15±0.32
	5.00 g/kg	6.84±3.36	1.06±0.90	5.76±3.26	16.48±14.12	83.24±14.10	0.00±0.00	0.15±0.28
雌	对照	6.38±6.90	1.01±1.70	5.36±5.23	12.25±7.08	87.49±7.08	0.08±0.08	0.05±0.08
	1.25 g/kg	3.61±0.55	0.40±0.26	3.21±0.42	10.44±5.88	89.28±5.94	0.10±0.08	0.06±0.08
	2.50 g/kg	3.80±0.53	0.82±0.52	2.97±0.39	20.86±11.15	78.90±11.24	0.04±0.09	0.12±0.16
	5.00 g/kg	3.64±0.58	0.61±0.44	3.03±0.50	16.03±9.77	83.75±9.84	0.05±0.08	0.09±0.12
性别	组别	BASO/%	RBC/(10 ¹² /L)	HGB/(g/L)	HCT/%	MCV/(fL)	MCH/(pg)	MCHC/(g/L)
雄	对照	0.08±0.08	5.62±0.31	112.90±6.72	33.82±1.93	60.22±2.02	20.12±0.61	333.80±4.21
	1.25 g/kg	0.10±0.07	5.84±0.49	118.22±8.27	35.73±2.45	61.24±1.52	20.26±0.50	330.67±5.52
	2.50 g/kg	0.12±0.04	6.14±0.43*	121.67±8.36*	36.82±3.05*	59.92±1.06	19.83±0.39	330.83±6.68
	5.00 g/kg	0.14±0.05	6.11±0.48*	121.63±9.02*	36.89±3.01*	60.43±1.41	19.93±0.37	329.75±6.27
雌	对照	0.13±0.09	5.47±0.44	110.60±7.72	33.41±2.27	61.21±2.13	20.24±0.63	330.50±4.58
	1.25 g/kg	0.12±0.10	5.86±0.58	119.27±13.34	36.39±4.18	62.02±2.43	20.33±0.66	327.73±5.87
	2.50 g/kg	0.08±0.13	5.67±0.29	116.00±5.34	35.78±1.91	63.16±1.30	20.50±0.45	324.20±2.17*
	5.00 g/kg	0.08±0.10	6.17±0.97*	127.00±20.39*	39.02±5.67**	63.30±1.44*	20.53±0.45	325.10±5.76*
性别	组别	RDWSD/(fL)	RDWCV/%	PLT/(10 ⁹ /L)	MPV/(fL)	PDW/%	PCT/%	
雄	对照	33.90±1.79	14.50±0.71	658.80±125.18	5.77±0.13	14.76±0.08	0.38±0.08	
	1.25 g/kg	34.89±1.62	14.56±0.53	565.00±189.64	5.86±0.24	14.84±0.16	0.33±0.11	
	2.50 g/kg	34.50±1.05	14.50±0.55	588.67±166.73	6.02±0.21*	14.95±0.10**	0.35±0.09	
	5.00 g/kg	35.00±1.51	14.63±0.52	556.00±190.99	5.96±0.21*	14.94±0.14**	0.33±0.11	
雌	对照	34.40±1.90	14.30±0.67	725.70±104.37	5.71±0.15	14.81±0.10	0.41±0.06	
	1.25 g/kg	34.27±1.90	14.00±0.77	700.82±91.23	5.69±0.14	14.85±0.16	0.40±0.05	
	2.50 g/kg	33.60±1.14	13.60±0.55	759.40±211.08	5.80±0.16	14.94±0.11*	0.44±0.13	
	5.00 g/kg	33.80±1.32	13.60±0.70*	711.80±180.84	5.71±0.16	14.91±0.17	0.41±0.11	

注: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 。

表 8 地椒提取物对大鼠血液生化指标的影响

Table 8 Effect of *Thymus quinquecostatus* Celak on hemobiochemistry in rats (n=10, $\bar{x} \pm s$)

性别	组别	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	TP/(g/L)	ALB/(g/L)	UREA/(mmol/L)
雄	对照	46.44±13.39	222.42±96.60	60.19±7.25	39.74±4.48	7.03±0.63
	1.25 g/kg	54.20±12.02	218.10±111.23	59.58±2.03	39.08±0.73	8.23±1.19*
	2.50 g/kg	54.9±10.54	199.86±133.77	60.48±1.77	39.72±0.88	8.45±0.95**
	5.00 g/kg	52.76±9.38	220.81±115.17	60.29±1.88	39.50±0.84	8.23±0.95**
雌	对照	40.28±6.97	262.74±55.42	52.54±10.12	37.52±2.24	8.46±1.62
	1.25 g/kg	40.36±5.82	240.93±37.14	56.60±3.11	38.05±2.19	8.71±0.96
	2.50 g/kg	49.18±16.26	139.96±71.59**	58.45±3.14	39.22±1.74	10.34±1.96
	5.00 g/kg	47.00±12.95	155.96±90.30**	58.16±3.00	39.13±1.66	10.15±1.50*

转下页

接上页

性别	组别	CREA/($\mu\text{mol/L}$)	CHO/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	GLU/(mmol/L)
雄	对照	27.59 \pm 10.02	1.35 \pm 0.33	0.46 \pm 0.24	3.41 \pm 1.26
	1.25 g/kg	30.65 \pm 2.36	1.14 \pm 0.05	0.33 \pm 0.06	2.29 \pm 0.23
	2.50 g/kg	29.32 \pm 2.76	1.23 \pm 0.20	0.44 \pm 0.11	1.47 \pm 0.75**
	5.00 g/kg	29.57 \pm 2.42	1.22 \pm 0.17	0.40 \pm 0.12	1.72 \pm 0.77**
雌	对照	36.62 \pm 3.87	1.35 \pm 0.20	0.24 \pm 0.07	3.13 \pm 1.41
	1.25 g/kg	34.96 \pm 4.00	1.45 \pm 0.19	0.30 \pm 0.11	3.04 \pm 1.46
	2.50 g/kg	34.65 \pm 10.66	1.74 \pm 0.34*	0.48 \pm 0.12***	2.25 \pm 0.82
	5.00 g/kg	32.58 \pm 8.80	1.66 \pm 0.37*	0.45 \pm 0.10***	2.30 \pm 1.15

注: * p <0.05; ** p <0.01; *** p <0.001。

地椒提取物对大鼠血液生化学检查结果, 如表 8 所示。地椒提取物能显著降低雌鼠的谷草转氨酶 (AST), 表明, 其能够改善雌性动物肝功能; 能显著增加雌雄动物的尿素 (UREA), 显示, 其具有一定的肾损伤功能; 能增加雌性动物的总胆固醇 (CHO)、甘油三酯 (TG) 水平而对雄性动物不影响, 说明, 其能明显改变雌性动物的脂肪代谢; 另外, 降低雌雄动物的葡萄糖 (GLU) 水平, 提示, 地椒提取物具有潜在的降血糖活性。文献^[5]报道, 大鼠连续腹腔注射 4 d 给予两种地椒提取物, 血清生化指标中血尿素氮、肌

酐和尿酸显著增加, 并且其中一个提取物的代谢组学分析显示, 糖酵解、Krebs 循环和 β -氧化途径均发生了改变, 乳酸和酮体增加, 柠檬酸、 α -酮戊二酸、肌酐、马尿酸盐、二甲基甘氨酸和二甲基丙氨酸减少, 均指向肝线粒体能量代谢发生了变化, 与本试验观察结果中生化指标变化一致。

2.3.3 对 SD 大鼠各脏器指数的影响

雄鼠高剂量和雌鼠中剂量的肝指数较对照组有所增大, 雄性中剂量睾丸指数增加, 雌鼠肾指数增加, 而脾、胸腺以及卵巢等指数无显著差异(p >0.05)(表 9)。

表 9 地椒提取物对大鼠脏器指数的影响

Table 9 Effect of *Thymus quinquecostatus* Celak on organ index of rats (n=10, $\bar{x} \pm s$)

性别	组别	肝/(g/100 g)	肾/(g/100 g)	脾/(g/100 g)	胸腺/(g/100 g)	睾丸/(g/100 g)	卵巢/(g/kg)
雄	对照	2.81 \pm 0.22	0.79 \pm 0.04	0.22 \pm 0.04	0.16 \pm 0.03	0.82 \pm 0.04	-
	2.50 g/kg	2.96 \pm 0.19	0.78 \pm 0.07	0.21 \pm 0.04	0.16 \pm 0.03	0.82 \pm 0.05	-
	5.00 g/kg	2.83 \pm 0.16	0.81 \pm 0.05	0.21 \pm 0.03	0.17 \pm 0.02	0.87 \pm 0.07*	-
	10.00g/kg	3.09 \pm 0.29*	0.81 \pm 0.05	0.22 \pm 0.03	0.17 \pm 0.02	0.85 \pm 0.06	-
雌	对照	2.95 \pm 0.35	0.77 \pm 0.05	0.23 \pm 0.03	0.24 \pm 0.02	-	0.52 \pm 0.11
	2.50 g/kg	3.16 \pm 0.33	0.80 \pm 0.05	0.24 \pm 0.02	0.26 \pm 0.02	-	0.53 \pm 0.09
	5.00 g/kg	3.36 \pm 0.45*	0.83 \pm 0.04*	0.21 \pm 0.02	0.24 \pm 0.02	-	0.51 \pm 0.07
	10.00 g/kg	3.02 \pm 0.20	0.79 \pm 0.06	0.24 \pm 0.03	0.24 \pm 0.02	-	0.53 \pm 0.08

注: 与阴性对照组比较, * p <0.05。

2.3.4 病理学变化

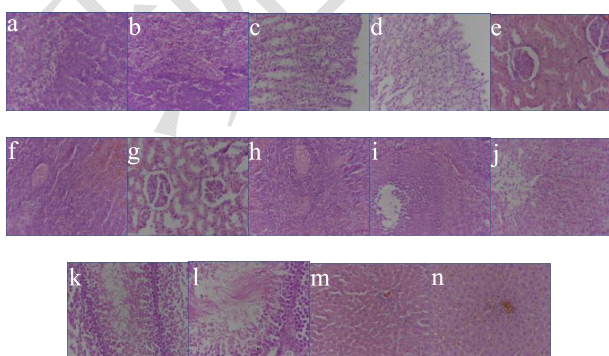


图 2 组织病理学改变

Fig.2 Histopathological changes (400 \times)

注: 图 a 胸腺空白对照; 图 b 5.00 g/kg 胸腺; 图 c 胃阴性对照; 图 d 5.00 g/kg 胃; 图 e 肾阴性对照; 图 f 5.00 g/kg 肾; 图 g 脾阴性对照; 图 h 5.00 g/kg 脾; 图 i 卵巢阴性对照; 图 j 5.00 g/kg 卵巢; 图 k 睾丸阴性对照; 图 l 5.00 g/kg 睾丸; 图 m 肝脏阴性对照; 图 n 5.00 g/kg 肝脏

对 5.00 g/kg 高剂量组 SD 大鼠颈椎脱臼处死, 解剖主要器官, 进行目测和镜检, 并与阴性对照组比较。显示, 心脏、肺、胸腺、胃、脾、卵巢、睾丸、小肠等脏器未见明显病理改变, 仅见肝脏、肾脏有明显病理学改变, 与文献^[5]报道存有较大差异。进一步分析认为, 4 d 用药的短周期, 尚不足以累积成肝脏和肾脏的病理学改变, 是与本研究产生结果差异的主要原因。

3 讨论与结论

3.1 地椒提取物制备

近二十年来,对地椒的研究主要集中在化学成分、制备工艺及药理活性研究。已分离及鉴定出多种挥发油类^[6,7]、黄酮类^[8-10]、三萜皂苷类^[11]及多糖类^[12]等成分,其中挥发油及黄酮类成分是其活性成分,并对其进行体内外抗氧化^[13-16]、抑菌^[17,18]、杀螨^[19]、抗肿瘤^[20,21]测试。故本试验在进行地椒提取物制备时,采用水煎煮提取黄酮,最大程度地遵循传统使用方式,以承“守正”之实;结合蒸馏法提取挥发性成分,最大可能地保留其活性,以发挥其抗氧化、抑菌、杀螨和提高免疫力等作用,以立“创新”之基。

3.2 急性毒试验

在本试验范围内,确定地椒提取物对小鼠、大鼠经口急性毒性最大耐受量分别为 $LD_{50}>60$ g/kg 和 $LD_{50}>30$ g/kg,属于无毒物质,将有助于地椒药食两用剂量的确定。

3.3 遗传毒试验

Ames 致突变试验、小鼠精子畸形试验、小鼠骨髓细胞微核试验表明,地椒提取物试验菌株及生殖细胞无致突变作用,但对骨髓细胞微核有一定毒性,存在有致染色体畸变的可能。也在一定程度上反映出其具有较强的生理活性,也将为遗传损伤机制的深入探讨研究奠定基础。

3.4 30 d 喂养试验

SD 大鼠 30 d 喂养试验表明,除高剂量组对大鼠肝肾有一定毒性外,其他脏器不受影响;地椒提取物对雄性动物体现为减重,对雌性动物表现为增重;对雄性动物性激素系统、造血系统、肌肉功能,可能有激活的作用;可能影响雌性动物脂代谢药物长期服用,对肝肾有一定影响,并显示可能有降低血糖的潜力,将有助于确定其有害效应的剂量、毒作用性质和靶器官,为其综合评价、多样化开发及合理应用,提供参考依据。

关于地椒的毒理学研究国内外开展的都较少,目前我们观察到的结果与文献报道一致。综合分析,本试验在对 SD 大鼠致畸作用研究^[22]基础上,通过毒理学安全性评价,确定了在给药剂量下,地椒有一定的毒性作用,试验中低剂量及以下较安全,为地椒的药食研究提供了数据支撑,为地椒的食用开发提供了科

学依据,有利于地椒的合理应用与综合开发,并有助于促进地椒产业的高质量发展。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999:234-235
Chinese Herbal Medicine Compilation Committee of National Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999: 234-235
- [2] 孙宝国.香精概论[M].北京:化学工业出版社,1996:58-59
SUN Bao-guo. Overview of Essence [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1996: 58-59
- [3] 路立峰,李赫宇,张晓林,等.地椒挥发油提取工艺及 GC-MS 成分分析[J].食品研究与开发,2016,37(19):163-167
LU Li-feng, LI He-yu, ZHANG Xiao-lin, et al. Extraciton process of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak and analysis of chemical components by GC-MS [J]. Food Research and Development, 2016, 37(19): 163-167
- [4] 路立峰,张晓林,赵玉文,等.五脉地椒的生药学鉴定[J].现代中药研究与实践,2016,30(4):12-17
LU Li-feng, ZHANG Xiao-lin, ZHAO Yu-wen, et al. Pharmacognostical identifi cation of *Thymus quinquecostatus* Celak [J]. Chinese Medicine Journal of Researc and Practice, 2016, 30(4): 12-17
- [5] Fouzia B, Zehra K, Mokhtar Y. et al. Prospective evaluation of potential toxicity of repeated doses of *Thymus vulgaris* L. eextracts in rats by means of clinical chemistry, histopathology and NMR-based metabonomic approach [J]. Drug Testing and Analysis, 2014, 6(10): 1069-75
- [6] 陈建英,张可炜,程传格,等.五脉地椒挥发油化学成分的研究[J].中国药学杂志,2001,36(1):16-18
CHEN Jian-ying, ZHANG Ke-wei, CHEN Chuan-ge, et al. Chemical constituents of essential oil from *Thymus quinquelostatus* [J]. Chinese Pharmacy Journal, 2001, 36(1): 16-18
- [7] 陈光英,袁艺,艾克蕙.地椒挥发油化学成分研究[J].药学报,2001,3:233-234
CHEN Guang-ying, YUAN Yi, AI Ke-hui. Study on essential oil components in *Thymus quinquecostatus* Celak [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2001, 3: 233-234
- [8] 田玉欣,王炎,谢梦,等.地椒中总黄酮的含量测定及其体外抗氧化活性的研究[J].华西药理学杂志,2017,32(1):37-39
TIAN Yu-xin, WANG Yan, XIE Meng, et al. Study on the total flavones content and the *in vitro* antioxidation activity

- from *Thymus quinquecostatus* [J]. West China Journal of Pharmacy, 2017, 32(1): 37-39
- [9] 豆浩然,葛亮,陈杨,等.分光光度法测定展毛地椒提取物中总黄酮含量的适应性研究[J].现代中药研究与实践,2015, 29(1):25-28
DOU Hao-ran, GE Liang, CHEN Yang, et al. Adaptability study on determination of total flavonoids in extract of *Thymus* by ultraviolet spectrophotometry [J]. Chinese Medicine Journal of Research and Practice, 2015, 29(1): 25-28
- [10] 豆浩然,倪健,葛亮,等.大孔树脂纯化展毛地椒总黄酮工艺研究[J].辽宁中医杂志,2015,42(9):1726-1729
DOU Hao-ran, NI Jian, GE Liang, et al. Purification technology of total flavonoids from *Thymus* by macroporous resin [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 42(9): 1726-1729
- [11] 颜承,陈晓怡,隋宏,等.地椒抗氧化活性部位化学成分的研究[J].北京中医药大学学报,2016,39(5):383-389
YAN Cheng, CHEN Xiao-yi, SUI Hong, et al. Antioxidant activities and chemical compositions of *Thymus quinquecostatus* Celak [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2016, 39(5): 383-389
- [12] 李春龙,贾云钗.地椒多糖提取工艺研究[J].化学世界,2016, 57(9):549-553
LI Chun-long, JIA Yun-chai. Study on the optimization of extraction technology of polysaccharide from *Thymus quinquecostatus* optimization [J]. Chemical World Journal, 2016, 57(9): 549-553
- [13] 宋玲,隋宏.地椒对心脑血管疾病抗氧化作用的研究现状[J].宁夏医科大学学报,2018,40(11):1355-1357
SONG Ling, SUI Hong. Research status on antioxidant effect of ground pepper on *Thymus quinquecostatus* Celak and cerebrovascular diseases [J]. Journal of Ningxia Medical University, 2018, 40(11): 1355-1357
- [14] Kim Yon-Suk, Hwang Jin-Woo, Sung Si-Heung, et al. Protective effect of carvacrol from *Thymus quinquecostatus* Celak against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in Chang cells [J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24(2)
- [15] CHANG Yan-li, SHEN Meng, REN Xue-yang, et al. Multi-response extraction optimization based on anti-oxidative activity and quality evaluation by main indicator ingredients coupled with chemometric analysis on *Thymus quinquecostatus* Celak [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2018, 23(4)
- [16] Tae K H, Kim Hyoun-Chol, Kim Ju-Sung. Antioxidant and antidiabetic activity of *Thymus quinquecostatus* Celak [J]. Industrial Crops and Products, 2014, 52: 611-616
- [17] 任孝敏,尚坚,吴雨真,等.五脉地椒粗提物对果蔬病原菌的抑制作用[J].农产品加工(学刊),2012,5:37-38
REN Xiao-min, SHANG Jian, WU Yu-zhen, et al. Effect of the extractives of leaves of *Thymus quinquelostatus* Celak on inhibiting fruit and vegetable pathogens [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2012, 5: 37-38
- [18] 温馨,李广智.地椒草提取物杀菌效果及其毒性观察[J].职业卫生与病伤,2018,33(6):384-386
WEN Xin, LI Guang-zhi. Observation of germicidal effect and toxicity of *Thymus quinquelostatus* Celak extract [J]. Occupational Health and Injuries, 2018, 33(6): 384-386
- [19] 张凯,刘英,温海波,等.地椒提取物杀螨活性研究[J].中国农学通报,2010,26(5):236-238
ZHANG Kai, LIU Ying, WEN Hai-bo, et al. Acaricidal activity of extracts from *Thymus mongolicus* against *Tetranychus cinnabarinus* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(5): 236-238
- [20] 孙震晓,孙晋华,程霜,等.中药地椒提取物的抗肿瘤作用及对小鼠免疫功能的影响[J].中西医结合学报,2003,3:209-210,238
SUN Zheng-xiao, SUN Jin-hua, CHENG Shuang, et al. Original studies on anti-tumor and immunological effect of extracts from *Thymus quinquecostatus* Celak in mice [J]. Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2003, 3: 209-210, 238
- [21] Kim Yon-Suk, Hwang Jin-Woo, Kang Seo-Hee, et al. Thymol from *Thymus quinquecostatus* Celak. protects against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in Chang cells [J]. Journal of Natural Medicines, 2014, 68(1)
- [22] 路立峰,鲍天祺,邱召法,等.地椒水提物对大鼠致畸作用的研究[J].食品安全质量检测学报,2019,10(21):7225-7229
LU Li-feng, BAO Tian-qi, QIU Zhao-fa, et al. Study on teratogenicity of water extract of *Thymus quinquecostatus* Celak on SD rats [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(21): 7225-7229