

刺芪参胶囊活性成分含量测定及安全性评价

Determination of active components in Ciqishen capsule and its safety evaluation

王晓林 戴鹂莹 邸松 钟方丽

WANG Xiao-lin DAI Li-ying DI Song ZHONG Fang-li

(吉林化工学院化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022)

(School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin, Jilin 132022, China)

摘要:采用 HPLC 法测定刺芪参胶囊中人参皂苷含量,采用 UV 法测定刺芪参胶囊中多糖含量,利用大、小鼠经口急性毒性试验、Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验对刺芪参胶囊的安全性进行评价,采用 30 d 喂养试验进行毒理学研究。结果表明:刺芪参胶囊中人参皂苷及多糖的平均含量分别为 0.273, 3.190 g/100 g;刺芪参胶囊对大、小鼠急性经口最大耐受剂量均 > 24.0 g/kg · BW,按急性毒性分级,属无毒级;遗传毒性试验均为阴性;30 d 喂养试验表明,刺芪参胶囊对大鼠的临床检查、血液学指标检查、血生化指标检查、脏器重量和系数以及病理组织学检查等指标均无明显不良影响。说明刺芪参胶囊是一种安全无毒的产品,具有良好的食用安全性。

关键词:人参;黄芪;刺玫果;毒理学;安全性;人参皂苷;多糖

Abstract: The ginsenoside in Ciqishen capsule was detected by using HPLC, and the polysaccharide was determined by UV. The safety of Ciqishen capsule were evaluated by the acute toxicity test in rats and mice, with the mutation tests of salmonella test (Ames test), the micronucleus tests of mice bone marrow polychromatic erythrocytes and the experiment of mouse sperm deformity, and the 30-day feeding test was used for toxicological study. The results showed that the average contents of ginsenoside and polysaccharide in Ciqishen capsule were 0.273, 3.190 g/100 g. The acute toxicity result showed that the biggest

tolerance dose of Ciqishen capsule on rats and mice was more than 24.0 g/kg · BW. The results fell into the scale of non-toxicity, and the three genotoxicity tests were all found negative. The results of test on feeding for 30 days showed that there were no evident influence on the clinic experiment, hematology, biochemistry, the weight and coefficient of visceral organ and several indexes of pathological organization under the experiment dosage range. Our results show that Ciqishen capsule is a safe and non-toxic product with good food safety.

Keywords: ginseng; Astragalus; fruit of *Rosa davurica* Pall (FRDP); toxicology; safety; ginsenoside; polysaccharide

中药类保健食品是在中医药理论指导下以中药材为主要成分的具有保健功能的特殊食品^[1]。刺芪参胶囊是由人参、黄芪、刺玫果 3 味中药材制成的保健食品,其中,人参具有抗氧化、增强免疫、降血糖等活性^[2-4],作为新食品原料,其主要应用范围已逐渐从临床医疗扩大到保健、食品等领域^[5];刺玫果含有三萜皂苷、黄酮、多糖类活性成分,具有较强的增强免疫及药食同源的开发价值^[6-7],刺玫果与人参可以配伍使用^[8]。黄芪对免疫系统具有良好的调节作用^[9],能提高人体的活力^[10]、运动性能,具有抗疲劳的作用^[11-12],人参与黄芪配伍使用可提高机体免疫力^[13-14]。课题组拟将人参、黄芪、刺玫果三者配伍,按《保健食品检验与评价技术规范》测定其标志性成分人参皂苷及多糖的含量,并进行急性毒性试验、三项遗传毒性试验等试验,旨在为其研究开发提供依据。

1 试验部分

1.1 试剂与仪器

刺芪参胶囊:0.4 g/粒,每粒含人参 0.187 5 g、黄芪 0.312 5 g、刺玫果 0.375 0 g,自制;

人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 对照品:纯度 ≥ 98.0%,北京马

基金项目:吉林省科技厅重点科技攻关项目(编号:20170204001YY);吉林省教育厅“十三五”科技计划项目(编号:JKKH20170225KJ)

作者简介:王晓林,男,吉林化工学院教授,硕士。

通信作者:钟方丽(1970—),女,吉林化工学院教授,博士。

E-mail: zhongfl@jicet.edu.cn

收稿日期:2019-12-09

踏飞燕有限公司;

葡萄糖对照品:纯度 $\geq 98.0\%$,上海源叶生物有限公司;

乙腈、甲醇:HPLC级,天津市大茂化学试剂厂;

蒽酮:分析纯,上海源叶生物有限公司;

生化试剂盒:四川新健康成生物股份有限公司;

血液学试剂盒:深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;

环磷酸胺:江苏盛迪医药有限公司;

1,8-二羟基蒽醌:上海晶纯试剂有限公司;

氧化型辅酶 II、2-氨基苄:美国 Fluka 公司;

敌克松:上海金桥化工厂;

叠氮钠:ACROS 公司;

水为重蒸馏水;

其他化学试剂均为分析纯;

高效液相色谱仪:Agilent-1260 型,搭载 DAD 阵列检测器,安捷伦科技有限公司;

全自动生化分析仪:7600 型,日本日立株式会社;

奥林巴斯生物显微镜:CX31 型,日本 Olympus Corporation 公司;

紫外分光光度计:TU-1810 型,北京普析通用仪器有限公司;

兽用全自动血液细胞分析仪:BC-5300Vet 型,武汉盛世达医疗设备有限公司。

1.2 试验动物

SPF 级昆明种小鼠、SPF 级 SD 大鼠;动物生产许可证号为 SCXK(湘)2016-0002,动物检疫时间为 3~5 d,湖南斯莱克景达实验动物有限公司;

辐照灭菌清洁级大鼠饲料:生产许可证号为 SCXK(京)2014-0010,北京科澳协力饲料有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 刺芪参胶囊中人参皂苷含量的测定 按《中国药典》2015 年版一部中的方法测定。

(1) 色谱条件:以十八烷基键和硅胶为填充剂,乙腈为流动相 A,水为流动相 B,检测波长 203 nm,流速 1.0 mL/min,洗脱程序见表 1。

(2) 线性关系的考察:精密称取人参皂苷 R_{g1} 、 R_{e1} 、 R_{b1} 对照品 5.31,4.91,4.87 mg,加甲醇定容至 5 mL 容量

瓶中,精密吸取上述混合对照品溶液 0.2,0.5,1.0,2.0,3.0,6.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中定容,在色谱条件下进样 10 μ L,记录峰面积。

(3) 供试品溶液配制:称取研磨混合均匀的样品 2.50 g,采用氯仿用索氏提取器加热回流脱脂 3 h,将氯仿液回收再利用,剩余药渣的溶剂挥干,将滤纸筒和药渣一起移至具塞锥形瓶中,精密加入 50 mL 正丁醇饱和溶液,密塞,放置过夜,超声处理 30 min,过滤,弃去初滤液,精密量取续滤液 25 mL 于蒸发皿中蒸干溶剂,加适量甲醇将蒸发皿中的残渣溶解,并转移到 5 mL 容量瓶中,甲醇定容,得供试品溶液。

(4) 方法学考察试验:精密吸取人参皂苷 R_{g1} 、 R_{e1} 、 R_{b1} 的混合对照品溶液,按规定色谱条件下重复进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD 值,考察仪器精密性。取同一批样品制备 6 份供试品溶液,按色谱条件进样,记录人参皂苷 R_{g1} 、 R_{e1} 、 R_{b1} 的峰面积,计算样品中人参皂苷的含量及 RSD 值,考察方法的重复性。

(5) 检出限试验:精密吸取质量浓度分别为 21.24,19.64,19.48 μ g/mL 的人参皂苷 R_{g1} 、 R_{e1} 、 R_{b1} 的混合对照品溶液进行稀释,按规定色谱条件进样,以信号噪音比 ≥ 3 为指标,对仪器检出限进行考察。

(6) 加标回收率试验和刺芪参胶囊中人参皂苷含量的测定:称取研磨混合均匀的样品 6 份(已知人参皂苷含量),精密称定,将适量的质量浓度已知的人参皂苷 R_{g1} 、 R_{e1} 、 R_{b1} 对照品溶液加入到 6 份样品中,使加入的对照品与样品质量比分别约为 1:1,制备 6 份供试品溶液,按色谱条件于 203 nm 处测定峰面积值,计算加标回收率。

1.3.2 刺芪参胶囊中多糖含量的测定 参照《保健食品功效成分检测方法》中的蒽酮—硫酸分光光度测定法。

(1) 线性关系的考察:精密称取葡萄糖对照品 5.55 mg,加水定容至 50 mL 容量瓶中,配制葡萄糖对照品溶液,精密吸取上述对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL 于 10 mL 比色管中,加水至 2.0 mL,制备系列葡萄糖对照品溶液,按照规定的方法显色,测定 625 nm 处的吸光度。

(2) 供试品溶液配制:称取研磨混合均匀的样品于 100 mL 容量瓶中,加水 80 mL,沸水浴加热 1 h,冷却,定容,过滤,取滤液 50 mL,加糖化酶 0.5 g 于 60 $^{\circ}$ C 以下水浴水解 1 h,灭酶,冷却,定容至 50 mL,过滤,取续滤液 5.0 mL 于离心管中,加入无水乙醇 20 mL,混匀,于 4 $^{\circ}$ C 冰箱静置 4 h,离心,弃去上清液,残渣用 80%乙醇洗涤,离心,残渣加水溶解并定容至 25 mL 容量瓶,作为供试品溶液。

(3) 方法学考察试验:精密吸取质量浓度为 0.11 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液,显色,测定 625 nm 处

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Flow phase gradient elution procedure

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~35	19	81
35~55	19~29	81~71
55~70	29	71
70~100	29~40	71~60

的吸光度,重复测定 6 次,考察仪器精密度。取同一批样品制备 6 份供试品溶液,显色,测定 625 nm 处的吸光度,计算样品中多糖的平均含量和 RSD 值,考察方法的重复性。

(4) 加标回收率试验和刺苈参胶囊中多糖含量的测定:称取研磨混合均匀的样品 6 份(已知多糖含量),精密称定,将适量质量浓度已知的葡萄糖对照品溶液加入到 6 份样品中,使加入的对照品与样品质量比分别约为 1:1,按照供试品溶液制备方法进行制备,显色,测定 625 nm 处的吸光度,计算回收率。

1.3.3 大、小鼠急性经口毒性试验 采用最大耐受剂量法试验。经口灌胃给予刺苈参胶囊供试液,连续观察 14 d,记录动物的中毒症状和死亡情况,试验结束后称重、处死动物、解剖检查^[15]。

1.3.4 Ames 试验 采用鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型 TA97a、TA98、TA100、TA102 4 株标准突变型菌株进行试验,并以多氯联苯(PCB)诱导的大鼠肝微粒体酶(S-9)作为体外代谢活化系统。采用平板掺入法,在加与不加 S-9 的条件下进行测试,计数每皿回复突变菌落数^[16]。

1.3.5 小鼠骨髓细胞微核试验 按照 30 h 两次灌胃法试验,每次间隔 24 h。试验时高、中、低剂量组动物使用浓度为 0.500、0.250、0.125 g/mL 的供试液;阳性对照组动物使用浓度为 2.000 mg/mL 的环磷酰胺溶液。灌胃体积为 20 mL/kg·BW,按照 2003 年版的《保健食品检验与评价技术规范》中该项试验的方法进行操作,计算微核的千分率及嗜多染红细胞与正染红细胞比值^[17]。

1.3.6 小鼠精子畸形试验 高、中、低剂量组动物使用的供试液同 1.3.5,设溶剂对照及环磷酰胺阳性对照组(50 mg/kg·BW),阳性对照组动物使用浓度为

2.500 mg/mL 的环磷酰胺溶液。各组动物灌胃体积按 20 mL/kg·BW 每日经口灌胃一次,连续灌胃 5 d,按《保健食品检验与评价技术规范》中小鼠精子畸形试验中的规定,记录畸形类型及精子畸形率^[18]。

1.3.7 大鼠长期喂养(30 d)试验

(1) 大鼠及分组:选用断乳 SD 大鼠 80 只,对照组每组 20 只大鼠,设 3 个剂量组(相当于人体推荐量的 25, 50, 100 倍)。采用喂饲法,样品各剂量组喂饲加样饲料,对照组喂饲不加样的基础饲料,连续喂养 30 d。

(2) 观察指标:观察大鼠是否中毒、死亡及行为和表现。每周称 1 次体重和 2 次食物摄入量,计算每周食物利用率、总的食物利用率、总进食量及总增重。于试验结束时禁食 16 h 取腹主动脉血,测定血液学指标和血清生化指标;试验结束时处死大鼠,解剖,观察其内脏的变化,对其肝、肾、脾、睾丸进行称重,计算其脏体比,取肝、肾、脾、胃肠、睾丸(卵巢)作组织病理学检查^[19]。

1.4 数据处理

小鼠骨髓细胞微核试验用泊松分布和卡方检验进行统计学处理,小鼠精子畸形试验采用 X^2 检验进行统计学处理,长期喂养(30 d)试验采用 SPSS 统计软件对各项检测数据作单因素方差分析和(或) t 检验。

2 结果与讨论

2.1 人参皂苷含量的测定

2.1.1 线性关系 由表 2 可知,人参皂苷 R_{G_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 分别在 21.24~637.20, 19.64~589.20, 19.48~584.40 $\mu\text{g/mL}$ 呈线性关系。

2.1.2 方法学考察 结果(表 3)表明,仪器精密度、方法重复性良好。

表 2 线性关系考察结果

Table 2 The results of linear relationship investigation

对照品	回归方程	线性关系 R^2	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
人参皂苷 R_{G_1}	$y = 2\ 756.00x + 411.07$	0.999 9	21.24~637.20
人参皂苷 R_e	$y = 2\ 547.40x + 399.30$	0.999 9	19.64~589.20
人参皂苷 R_{b_1}	$y = 2\ 371.30x + 183.81$	0.999 9	19.48~584.40

表 3 方法学考察试验数据

Table 3 Methodological experimental data ($n = 6$) %

对照品	对照品精密度 RSD	重复性 RSD
人参皂苷 R_{G_1}	0.69	2.18
人参皂苷 R_e	0.61	0.98
人参皂苷 R_{b_1}	0.36	2.29

2.1.3 检出限 试验表明,当人参皂苷 R_{G_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 对照品质量浓度分别为 5.31、4.91、4.87 $\mu\text{g/mL}$ 时,仪器的信号噪音比为 3.8~5.9,上述浓度即定为利用该仪器检测人

参皂苷 R_{G_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的检出限值。

2.1.4 加标回收率试验和刺苈参胶囊中人参皂苷含量测定 由表 4 可知,3 批刺苈参胶囊中人参皂苷含量分别为 0.283、0.279、0.274 g/100 g(以人参皂苷 R_{G_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的三者之和计)。

2.2 多糖含量的测定

2.2.1 线性关系 以葡萄糖对照品质量的数据为横轴,测定的吸光度值为纵轴,绘制标准曲线,回归方程为 $y = 4.558\ 4x - 0.004\ 7$, $R^2 = 0.999\ 4$,说明葡萄糖质量在 0.022~0.132 mg 内呈线性关系。

表 4 加样回收率结果
Table 4 Result of recovery tests

目标成分	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
人参皂苷 Rg ₁	0.302	0.306	0.603	98.37	98.86	1.62
	0.285	0.306	0.584	97.71		
	0.279	0.306	0.582	99.02		
	0.272	0.306	0.584	101.96		
	0.301	0.306	0.600	97.71		
	0.286	0.306	0.587	98.37		
人参皂苷 Re	2.656	2.405	4.879	92.43	93.65	1.49
	2.509	2.405	4.740	92.77		
	2.452	2.405	4.734	94.89		
	2.389	2.405	4.607	92.22		
	2.644	2.405	4.943	95.59		
	2.517	2.405	4.778	94.01		
人参皂苷 Rb ₁	0.453	0.442	0.882	97.06	98.27	1.82
	0.428	0.442	0.872	100.45		
	0.418	0.442	0.847	97.06		
	0.408	0.442	0.842	98.19		
	0.451	0.442	0.895	100.45		
	0.429	0.442	0.855	96.38		

2.2.2 方法学考察 试验表明,仪器在检测葡萄糖对照品溶液的吸光度时,其 RSD 为 0.39%($n=6$),表明该方法的仪器精密密度良好;6 份供试品的多糖含量分别为 3.37,3.28,3.39,3.33,3.29,3.37 g/100 g,平值为 3.34 g/100 g,RSD 为 1.37%,表明该方法的重复性良好。

2.2.3 加标回收率试验和刺芪参胶囊中多糖含量测定

由表 5 可知,3 批刺芪参胶囊中多糖含量分别为 3.12,3.29,3.38 g/100 g(以葡萄糖计)。

2.3 急性毒性试验

由表 6 可知,雌、雄昆明小鼠和 SD 雌、雄大鼠在观察期内均未出现死亡和明显中毒症状,刺芪参胶囊对大、小鼠急性经口 MTD 值>24.0 g/kg·BW,属于无毒级。

2.4 遗传毒性试验

2.4.1 Ames 试验 由表 7、8 可知,刺芪参胶囊各剂量对各试验菌株在加与不加 S-9 代谢活化系统情况下,回复突

变数均未小于自发回复突变菌落数的 2 倍,并且没有剂量—反应关系,而阳性对照组的平均回变菌落数均大于溶剂对照组 2 倍以上,呈现明显阳性,说明刺芪参胶囊未诱导 4 种菌株回变菌落数增加,Ames 试验结果为阴性。

2.4.2 小鼠骨髓细胞微核试验 由表 9 可知,刺芪参胶囊各剂量组小鼠骨髓 PCE 微核率与纯水对照组相比,无统计学意义($P>0.05$);环磷酰胺对照组小鼠骨髓 PCE 微核率与纯水对照组相比,有统计学意义($P<0.01$);未见刺芪参胶囊诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率增高,说明刺芪参胶囊在各剂量下未见致突变作用。

2.4.3 小鼠精子畸形试验 由表 10 可知,溶剂对照组昆明雄性小鼠精子畸形率为 1.30%,刺芪参胶囊各剂量组精子畸形率为 1.32%~1.42%,与纯水对照组相比,无统计学意义($P>0.05$);环磷酰胺对照组精子畸形率为 5.42%,与纯水对照组相比,有统计学意义($P<0.01$),精

表 5 加样回收率结果
Table 5 Result of recovery tests

目标成分	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
葡萄糖	8.363 4	8.30	16.454 0	97.48	99.13	1.44
	8.326 6	8.30	16.551 2	99.09		
	8.390 1	8.30	16.604 1	98.96		
	8.269 8	8.30	16.384 6	97.77		
	8.380 1	8.30	16.701 5	100.26		
	8.199 7	8.30	16.600 9	101.22		

表 6 急性经口毒性试验结果

Table 6 Results of acute oral toxicity test

性别	剂量/ (g · kg ⁻¹ · BW)	动物数	累积死亡数	MTD/ (g · kg ⁻¹ · BW)	始重/g	给予受试物 第 7 天体重/g	终重/g
雌(小)	24.0	10	0	>24.0	21.6±0.6	27.6±2.1	31.4±2.0
雄(小)	24.0	10	0	>24.0	21.6±0.8	34.6±2.2	40.0±2.4
雌(大)	24.0	10	0	>24.0	210.0±10.9	237.3±8.4	245.0±7.5
雄(大)	24.0	10	0	>24.0	211.7±7.6	280.5±14.5	313.2±15.6

表 7 Ames 试验结果 I[†]

Table 7 Results of Ames test I

组别	剂量/皿	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
试验组	312.5 μg	108±7	116±5	33±2	36±2	125±4	130±7	241±5	261±8
	625 μg	109±4	116±4	35±5	36±1	131±4	131±4	246±6	256±7
	1 250 μg	116±5	117±7	35±2	37±4	135±5	135±6	246±10	259±10
	2 500 μg	114±9	114±7	33±3	35±3	141±10	141±5	249±11	247±10
	5 000 μg	110±4	115±6	31±1	34±2	130±3	127±3	234±7	236±6
自发对照	—	104±6	112±4	34±3	37±3	134±6	134±8	244±6	257±7
溶剂对照	100 μL	111±5	122±4	36±2	35±3	132±4	136±7	239±12	252±7
阳性对照		1 913±44 ^A	1 516±109 ^C	1 440±67 ^A	1 346±93 ^C	1 452±246 ^B	1 551±246 ^C	1 169±144 ^A	1 117±95 ^D

† A 为敌克松,50 μg /皿;B 为叠氮钠,1.5 μg /皿;C 为 2-氨基芴,10 μg /皿;D 为 1,8 二羟基酞,50 μg /皿。

表 8 Ames 试验结果 II[†]

Table 8 Results of Ames test II

组别	剂量/皿	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
试验组	312.5 μg	109±3	120±7	34±2	38±3	129±6	138±7	249±6	265±6
	625 μg	107±5	117±6	32±2	37±2	130±5	141±4	250±12	258±10
	1 250 μg	103±6	118±5	33±3	36±2	132±6	132±7	260±4	270±7
	2 500 μg	103±4	112±3	34±3	39±1	133±10	138±7	258±10	251±8
	5 000 μg	99±6	103±6	32±4	31±1	123±2	124±4	234±6	230±4
自发对照	—	111±2	113±3	36±4	40±3	138±7	139±8	246±11	255±7
溶剂对照	100 μL	113±4	120±5	36±3	39±4	133±7	146±6	254±6	257±9
阳性对照		1 946±91 ^A	1 513±164 ^C	1 373±98 ^A	1 287±66 ^C	1 403±38 ^B	1 258±139 ^C	1 069±68 ^A	1 024±91 ^D

† A 为敌克松,50 μg /皿;B 为叠氮钠,1.5 μg /皿;C 为 2-氨基芴,10 μg /皿;D 为 1,8 二羟基酞,50 μg /皿。

子畸形类型主要表现为以无定形为主。说明刺芪参胶囊未诱发小鼠精子畸形率增高。

2.5 大鼠长期喂养(30 d)试验

2.5.1 一般观察 试验表明,各剂量组雌、雄鼠在整个试验期间的活动、进食、饮水及粪便性状正常,没有发现其行为明显改变、中毒及死亡。

2.5.2 对 SD 大鼠体重及体重增长的影响 由表 11 可知,各剂量组雌、雄鼠每周体重和试验期间体重总增重与对照组相比,均无统计学意义($P>0.05$)。

2.5.3 对 SD 大鼠进食及食物利用率的影响 由表 12 可

知,各剂量组雌、雄鼠每周进食量及总进食量与对照组相比,均无统计学意义($P>0.05$);各剂量组雌、雄鼠每周食物利用率及试验期间雌、雄鼠总食物利用率与对照组相比,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.5.4 血液学指标检查 由表 13 可知,各剂量组雌、雄鼠试验末期各项血液学指标与对照组相比,无统计学意义($P>0.05$)。

2.5.5 血液生化指标检查 由表 14 可知,低剂量组雌鼠谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)降低,与对照组相比,有统计学意义($P<0.01$);中、高剂

表 9 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验结果[†]

Table 9 Micronucleus test of polychromatic erythrocytes in bone marrow of mice

组别	剂量	性别	含微核的 PCE 数	微核率/%	PCE/NCE/%
纯水	20 mL/kg · BW	雌	9	1.80±0.84	1.03±0.09
		雄	8	1.60±0.89	0.95±0.10
	2.5 g/kg · BW	雌	4	0.80±0.45	0.90±0.05
		雄	7	1.40±0.89	1.02±0.19
刺芪参胶囊	5.0 g/kg · BW	雌	11	2.20±1.09	0.93±0.06
		雄	7	1.40±0.89	1.07±0.08
	10.0 g/kg · BW	雌	11	2.20±0.84	0.95±0.18
		雄	8	1.60±1.14	0.93±0.09
环磷酰胺	40.0 mg/kg · BW	雌	114	22.80±10.26**	0.88±0.06
		雄	122	24.40±7.37**	0.98±0.05

† ** 与溶剂对照组相比,差异有统计学意义(P<0.01)。

表 10 对小鼠精子畸形试验的影响[†]

Table 10 The effect of Ciqishen capsules on the mouse sperm abnormality test

组别	剂量	畸形类型							畸形个数	畸形率/%
		无钩	香蕉形	胖头	无定形	尾折叠	双头	双尾		
纯水	20.0 mL/kg · BW	8	2	3	52	0	0	0	65	1.30±0.07
	2.5 g/kg · BW	5	1	2	54	1	1	2	66	1.32±0.13
样品	5.0 g/kg · BW	4	1	0	65	1	0	0	71	1.42±0.18
	10.0 g/kg · BW	4	3	2	58	1	1	0	69	1.38±0.19
环磷酰胺	50.0 mg/kg · BW	16	4	4	239	4	2	2	271	5.42±0.93**

† ** 与溶剂对照组相比,差异有统计学意义(P<0.01)。

表 11 刺芪参胶囊对大鼠体重的影响

Table 11 The effect of Ciqishen capsules on the body weight of rats

性别	称重时间/g	0 mg/kg · BW	1 334 mg/kg · BW	2 667 mg/kg · BW	5 334 mg/kg · BW
雌	始重	81.4±2.1	81.6±2.3	81.4±2.5	81.6±2.3
	第 1 周末	127.6±3.7	130.2±6.1	124.4±5.4	126.3±5.0
	第 2 周末	168.2±8.2	168.0±9.6	164.2±11.1	166.5±7.9
	第 3 周末	198.6±8.3	201.2±13.7	192.0±12.9	193.9±12.2
	终重	222.7±14.2	223.7±18.3	216.9±18.5	219.5±17.3
	总增重	141.4±13.1	142.1±19.1	135.6±17.2	137.9±17.0
雄	始重	82.7±3.2	82.6±3.3	82.5±3.3	82.5±3.5
	第 1 周末	137.2±8.2	137.6±9.2	140.1±9.7	139.1±6.7
	第 2 周末	187.4±8.5	191.6±6.6	191.3±8.1	190.4±9.6
	第 3 周末	258.3±12.7	260.2±11.4	257.6±18.6	265.5±10.3
	终重	326.9±18.7	331.2±14.2	324.7±30.5	339.3±14.7
	总增重	244.2±18.7	248.6±13.7	242.2±28.5	256.8±15.1

量组雌鼠该 3 项指标与对照组相比,均无统计学意义(P>0.05),故该 3 项指标的改变无生物学意义。各剂量组雄鼠各项生化指标和各剂量组雌鼠其他各项血液生化指标与对照组相比,均无统计学意义(P>0.05)。

2.5.6 脏器绝对重量和脏/体比值 由表 15 可知,各剂

量组雌、雄鼠各项脏器重量与对照组相比均无统计学意义(P>0.05);中、高剂量组雄鼠肾脏体重比值略高于对照组,与对照组相比,有统计学意义(P<0.05),但该两项指标值在正常值范围内,故认为该两项指标的改变无生物学意义;各剂量组雌鼠各脏器系数和各剂量组雄鼠其

表 12 刺芪参胶囊对大鼠每周进食量和每周食物利用率的影响

Table 12 The effect of Ciqishen capsules on the food intake and food utilization of rats each week

性别	时间/ 周	0 mg/kg · BW		1 334 mg/kg · BW		2 667 mg/kg · BW		5 334 mg/kg · BW	
		进食量/g	食物利 用率/%	进食量/g	食物利 用率/%	进食量/g	食物利 用率/%	进食量/g	食物利 用率/%
雌	1	113.8±4.8	40.7±2.5	116.7±5.6	41.5±4.0	111.1±6.0	38.8±3.3	114.0±4.4	39.2±2.7
	2	152.8±5.6	26.5±4.5	152.8±4.5	24.7±2.4	152.0±6.1	26.2±3.5	161.3±4.2	24.9±4.1
	3	150.9±5.8	20.2±3.0	151.2±3.3	21.8±4.0	145.7±1.8	19.0±3.3	148.6±9.1	18.2±5.0
	4	170.2±13.5	14.0±3.5	173.4±11.3	12.8±5.0	171.5±12.2	14.5±4.0	171.3±10.8	14.8±2.8
	合计	587.7±21.4	24.0±1.7	594.1±37.9	23.9±2.1	580.3±38.7	23.3±2.1	595.2±24.5	23.1±2.0
雄	1	122.8±10.1	44.3±3.2	123.4±10.6	44.6±4.6	126.9±8.3	45.3±3.4	127.9±8.5	44.2±2.4
	2	171.5±7.8	29.3±3.8	175.4±3.0	30.8±2.8	175.4±3.4	29.2±1.9	174.1±4.1	29.3±5.6
	3	192.2±6.2	37.0±4.4	192.8±8.0	35.6±3.9	191.0±9.3	34.6±6.4	193.9±5.9	38.8±3.1
	4	233.5±15.9	29.3±1.6	236.7±13.8	30.1±4.1	239.6±24.0	27.7±3.4	251.3±15.6	29.3±2.4
	合计	720.0±31.7	33.9±1.4	728.3±29.2	34.2±2.1	732.9±33.7	33.0±2.5	747.2±23.5	34.4±1.6

表 13 刺芪参胶囊对大鼠血常规的影响

Table 13 The effect of Ciqishen capsules on the blood routine of rats

剂量/ (mg · kg ⁻¹ · BW)	RBC/(×10 ¹² · L ⁻¹)		HGB/(g · L ⁻¹)		PLT/(×10 ⁹ · L ⁻¹)		WBC/(×10 ⁹ · L ⁻¹)		HCT/%	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
0	7.53±0.43	8.03±0.70	164.0±10.8	173.7±18.2	949±158	996±192	4.36±1.00	8.11±1.08	47.5±3.2	50.0±5.4
1 334	7.30±0.68	7.89±0.24	157.2±12.9	172.7±7.4	842±104	911±121	3.68±1.24	8.83±0.95	45.9±3.2	50.6±1.7
2 667	7.96±0.61	7.51±0.57	171.5±11.3	165.7±9.6	842±128	1002±130	3.76±1.19	7.83±2.14	49.8±3.5	47.8±3.0
5 334	7.62±0.64	7.99±0.50	165.4±15.9	176.5±11.4	776±159	889±137	3.22±1.22	6.91±2.15	48.4±4.5	52.0±3.4
剂量/ (mg · kg ⁻¹ · BW)	NEU/%		LYM/%		MON/%		EOS/%		BAS/%	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
0	14.86±5.53	11.56±4.14	80.34±6.49	83.40±4.26	3.16±1.06	4.17±1.38	1.64±0.55	0.86±0.41	0.00±0.00	0.01±0.03
1 334	18.45±9.60	11.71±4.11	78.56±10.04	82.61±4.88	1.94±0.87	4.75±1.26	1.05±0.63	0.92±0.36	0.00±0.00	0.01±0.03
2 667	17.28±5.16	11.77±2.77	79.20±5.53	83.83±4.04	2.17±1.23	3.19±1.45	1.35±0.44	1.20±0.38	0.00±0.00	0.01±0.03
5 334	18.06±9.44	12.39±3.07	77.98±13.08	83.46±3.57	1.63±1.77	3.22±1.12	2.26±2.53	0.92±0.35	0.07±0.22	0.01±0.03

表 14 刺芪参胶囊对大鼠生化指标的影响[†]

Table 14 The effect of Ciqishen capsules on the biochemical indicators of rats

剂量/ (mg · kg ⁻¹ · BW)	TP/(g · L ⁻¹)		ALB/(g · L ⁻¹)		ALT/(U · L ⁻¹)		AST/(IU · L ⁻¹)		BUN/(mmol · L ⁻¹)	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
0	54.7±2.1	53.4±2.1	31.5±1.0	30.2±1.7	31.3±6.7	32.2±8.2	83.2±9.7	87.2±11.5	7.48±1.28	4.75±0.61
1 334	56.5±1.8	52.6±1.1	32.2±1.0	29.9±0.7	23.8±3.2**	36.9±9.3	71.2±6.1**	87.5±9.5	6.67±0.95	4.86±0.98
2 667	56.3±1.9	53.5±1.7	32.3±1.0	30.3±0.9	26.6±5.8	34.9±7.7	86.0±9.5	84.7±10.8	7.32±1.04	5.42±0.58
5 334	58.1±3.7	52.2±2.2	33.1±1.9	29.9±1.0	27.9±6.3	32.0±8.3	80.7±11.2	80.5±12.4	7.96±1.30	4.98±0.83
剂量/ (mg · kg ⁻¹ · BW)	CREA/(μmol · L ⁻¹)		TG/(mmol · L ⁻¹)		CHOL/(mmol · L ⁻¹)		GLU/(mmol · L ⁻¹)			
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄		
0	35.4±5.7	25.7±3.4	0.47±0.10	0.71±0.24	2.30±0.20	2.09±0.25	7.12±0.76	6.22±0.73		
1 334	31.0±3.9	25.6±3.9	0.37±0.07**	0.61±0.24	2.42±0.48	2.00±0.32	7.58±0.84	7.01±0.96		
2 667	32.2±3.6	27.6±5.7	0.42±0.10	0.51±0.31	1.91±0.49	2.08±0.38	7.45±0.97	6.78±1.65		
5 334	33.2±6.4	29.8±2.6	0.53±0.11	0.54±0.21	2.23±0.44	1.82±0.24	8.04±0.65	7.78±1.83		

[†] ** 与溶剂对照组相比,差异有统计学意义(P<0.01)。

表 15 刺芪参胶囊对大鼠脏器重量与脏/体比的影响[†]

Table 15 The effect of Ciqishen capsules on the organ weight and the organ / body ratio of rats

剂量/ (mg · kg ⁻¹ · BW)	禁食后体重/g		肝重/g		肝/体(g/g)		脾重/g	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
0	204.5±10.6	297.3±19.1	6.44±0.57	9.01±0.73	3.14±0.16	3.03±0.12	0.47±0.08	0.67±0.12
1 334	205.5±16.9	299.6±13.9	6.32±0.67	9.55±0.65	3.07±0.14	3.19±0.14	0.48±0.08	0.74±0.05
2 667	198.6±15.3	293.1±24.2	6.14±0.64	9.20±1.22	3.08±0.20	3.13±0.20	0.47±0.07	0.71±0.15
5 334	202.7±14.5	306.0±1.5	6.28±0.41	9.57±0.84	3.10±0.15	3.12±0.20	0.49±0.10	0.68±0.08

剂量/ (mg · kg ⁻¹ · BW)	脾/体(g/g)		肾重/g		肾/体(g/g)	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄
0	0.24±0.03	0.23±0.03	1.56±0.09	2.27±0.24	0.77±0.04	0.76±0.06
1 334	0.23±0.03	0.25±0.02	1.59±0.18	2.36±0.12	0.77±0.04	0.79±0.05
2 667	0.24±0.02	0.24±0.04	1.56±0.15	2.41±0.21	0.79±0.05	0.82±0.04 *
5 334	0.24±0.04	0.22±0.02	1.61±0.15	2.50±0.16	0.79±0.04	0.82±0.05 *

[†] * 与溶剂对照组相比,差异有统计学意义(P<0.01)。

他脏器系数与对照组相比,均无统计学意义(P>0.05)。

2.5.7 病理组织学检查 试验结束后处死动物,解剖,肉眼观察未见异常。组织病理学检查结果显示,对照组有 1 例雌性大鼠肝脏有轻度小灶状坏死,高剂量组有 1 例雄鼠肾小管变性、坏死,系动物自发病变,与刺芪参胶囊无关,对照组及高剂量组动物其余脏器未见明显病理组织学改变。

3 结论

建立了 HPLC 测定刺芪参胶囊中人参皂苷(以人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 三者之和计)含量的方法,经测定刺芪参胶囊中人参皂苷含量为 0.273 g/100 g;建立了 UV 测定刺芪参胶囊中多糖(以葡萄糖计)含量的方法,经测定刺芪参胶囊中多糖(以葡萄糖计)含量为 3.190 g/100 g。为了科学地评价刺芪参胶囊作为保健食品的安全性,对其进行了大、小鼠的急性经口毒性试验、遗传毒性试验及大鼠 30 d 喂养试验,结果表明,刺芪参胶囊对大、小鼠急性经口毒性试验结果 MTD 值均>24.0 g/kg · BW,属无毒性;三项遗传毒性试验结果均为阴性,表明刺芪参胶囊未见致畸变作用;刺芪参胶囊连续 30 d 给药没有对大鼠的血液生化指标产生影响,没有对大鼠的食物利用率、体重、进食量以及试验期间总食物利用率、增重、摄食量、主要免疫器官的脏/体比产生明显影响;动物血液学指标检查、血生化指标检查未见异常变化;未发现与刺芪参胶囊有关的病理组织学改变。综上,在试验条件下口服刺芪参胶囊无明显毒副作用。刺芪参胶囊的安全性评价按《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年)的规定进行,但该《规范》目前已失效,而新的《保健食品毒理学评价程序》仍处于征求意见阶段,待其实施后,课题组将根据相关要求对试验内容进行补充。

参考文献

- [1] 单峰,黄璐琦,郭娟,等. 药食同源的历史和发展概况[J]. 生命科学, 2015, 27(8): 1 061-1 069.
- [2] RU Wen-wen, WANG Dong-liang, XU Yun-peng, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Panax ginseng* (C A Mey) [J]. Drug Discoveries & Therapeutics, 2015, 9(1): 23-32.
- [3] WANG Jia, SUN Cheng-xin, ZHENG Yan, et al. The effective mechanism of the polysaccharides from *Panax ginseng* on chronic fatigue syndrome[J]. Archives of Pharmacal Research, 2014, 37(4): 530-538.
- [4] 齐仕博,张露,宋鑫萍,等. 辐照对人参活性成分及其药理特性的影响研究进展[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 161-166.
- [5] 刘焕焕,何天竺,王伟楠,等. 人参健康产品的研究开发进展[J]. 食品工业, 2017, 38(5): 264-266.
- [6] 温秀兰,兰淑清,杨光华. 刺玫果对噪声所致小鼠免疫功能改变的扶正作用[J]. 中医药学报, 1990(6): 42-43.
- [7] 符群,吴桐,廖声玲,等. 刺玫果醇提物制备及其主要活性成分与抗氧化相关性[J]. 北京林业大学学报, 2019, 41(8): 131-139.
- [8] 王萍,殷丽君,杨金燕. 刺玫果人参保健饮料的研制[J]. 中国林副特产, 2000(3): 9-10.
- [9] 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): 1 482-1 485.
- [10] KALLON S, LI Xiao-rong, JI Jun, et al. Astragalus polysaccharide enhances immunity and inhibits H9N2 avian influenza virus *in vitro* and *in vivo* [J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2013, 4(1): 1-11.
- [11] LEE D Y, NOH H J, CHOI J, et al. Anti-inflammatory cycloartanetype saponins of *Astragalus membranaceus* [J]. Molecules, 2013, 18(4): 3 725-3 732.

(下转第 206 页)

量和补充液的内容物含量,未来研究的重点将继续探究并优化保持人体的体液平衡的关键参数,保障运动员,军事人员和户外高强度工作人员的安全,进一步提高体能。

参考文献

- [1] 钱远宇,刘杰,王鑫鑫,等.不同口服补液方法预防运动性横纹肌溶解症的对比研究[J].军医进修学院学报,2011(11):31-33.
 - [2] 郭强斌,苗苗,黄玉山,等.低氧训练中糖—电解质饮料补充对机体水平衡及运动能力的影响[J].体育学刊,2008(3):113-117.
 - [3] 王清兰,张梅岭.口服补液盐的临床应用与动物试验研究[J].畜牧兽医学报,1991,22(2):140-143.
 - [4] 郭强.运动饮料与运动能力相关关系的研究[J].体育科技文献通报,2011(8):134-135,137.
 - [5] 朱海龙,尹清.普通外科手术患者早期口服补液与延迟口服补液的比较研究[J].中国社区医师,2016(15):106-107.
 - [6] 肖军秀,王娟.运动饮料的研究进展[J].食品研究与开发,2019(4):154-163.
 - [7] 付蕾.补充不同组成成分运动饮料对耐力运动体液平衡指标的影响[D].上海:上海体育学院,2016:55-71.
 - [8] 黄敏,郑建仙,董庆亮,等.葛根复合固体饮料保护化学性肝损伤的研究[J].食品与机械,2017,33(2):152-161.
 - [9] 陈敏雄.运动饮料对人体运动能力的影响[J].体育研究与教育,2002,17(4):64-65.
 - [10] 杨则宜.运动饮料:人类健康新资源[J].食品与机械,2004,20(5):6-11.
 - [11] 黄兴,吴昊,姚婉婉.高温高湿环境中运动前补液方法及效果研究[J].湖北体育科技,2016(1):67-73.
 - [12] 张猛.富含牛奶蛋白的饮料对女性运动后能量摄入的影响[J].基因组学与应用生物学,2019(4):95-106.
 - [13] 张山佳.茶饮料对体育运动员运动功能的影响研究[J].福建茶叶,2017,39(6):33-34.
 - [14] 刘远鹏,张春丽,秦颖.运动饮料:水分、糖和电解质的补充及吸收[J].饮料工业,2006(6):17-22.
 - [15] 尚承林.运动饮料对运动能力的影响与作用[J].粮食流通技术,2016,11(21):5-7.
 - [16] 刘璐瑶,彭貽海.有氧运动中保持体液和电解质平衡的策略[J].山东体育学院学报,2016(1):73-75.
 - [17] 魏冰,张云龙,王文莹,等.运动饮料对运动人体代谢和运动能力的作用[J].中国食品学报,2007,7(3):37-42.
 - [18] 姚毓才,李可基,陈吉棣,等.复合功效成分运动饮料的人体试食效果及评价方法探讨[J].体育科学,2006,22(5):96-98.
 - [19] 林朝霞,陈园.运动饮料对体育运动功能的影响[J].食品安全质量检测学报,2019(8):2300-2303.
 - [20] 赵文双,额尔敦,马誉友,等.绿健运动饮料对运动员某些生理指标的影响[J].解放军医药杂志,2007,19(1):43-46.
 - [21] 胡森,侯经元,周国勇,等.口服补液对40%血容量失血大鼠组织灌流、脏器功能及存活率的影响[J].中华创伤杂志,2010,26(5):460-462.
 - [22] 张糯东,梅合介.等渗饮料的功能及发展现状[J].包装与食品机械,2016,34(3):62-65.
-
- (上接第 109 页)
- [12] YEH T S, CHUANG H L, HUANG W C, et al. *Astragalus membranaceus* improves exercise performance and ameliorates exercise-induced fatigue in trained mice[J]. Molecules, 2014, 19(3): 2793-2807.
 - [13] 于建斌,尹光文,何秋波,等.参芪片辅助治疗复发性生殖器疱疹的临床疗效及其免疫调节作用[J].中国中西医结合杂志,2001,21(11):831-833.
 - [14] 张海玉,朴惠顺,金在久,等.参芪合剂对环磷酰胺所致免疫抑制小鼠免疫和抗氧化功能的影响[J].吉林大学学报:医学版,2009,35(5):857-860.
 - [15] 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.
 - [16] 孙杰,胡奇,李世芬,等.番茄红素的安全性评价及对小鼠免疫功能的影响[J].食品科学,2015,36(9):170-175.
 - [17] 范治云,谭会萍,李志坤,等.三七参芪胶囊安全性评价及缓解体力疲劳功能的研究[J].食品研究与开发,2018,39(19):180-184.
 - [18] 肖云峰,李文妍,马睿婷,等.和辉胶囊的毒理学安全性评价[J].现代食品科技,2018,34(6):274-281.
 - [19] 秦珩,李世芬,胡奇,等.梅花鹿茸血冻干粉的安全性评价及缓解体力疲劳功能研究[J].食品与机械,2019,35(8):161-166.
-
- (上接第 125 页)
- [10] 李金娜.温度结合低压静电场对灵武长枣贮藏保鲜效果的研究[D].银川:宁夏大学,2019:29-30.
 - [11] 李海波,谢超,梁端萍,等.基于低压静电场技术(LVEF)协同低温对舟山杨梅保鲜过程中品质的影响[J].食品工业科技,2020,41(7):265-270.
 - [12] 马琳.壳寡糖复合其他保鲜剂对杏果贮藏品质的影响[D].北京:中国农业大学,2015:49.
 - [13] 张培书,何伍金,马关雪,等.“红阳”猕猴桃采后存放过程中的品质变化[J].北方园艺,2019(17):108-117.
 - [14] 朱新卫.精胺、亚精胺对杏果采后品质及生理效应的影响[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2014:27-28.
 - [15] 王志华,王文辉,佟伟,等.1-MCP结合降温方法对鸭梨采后生理和果心褐变的影响[J].果树学报,2011,28(3):513-517.
 - [16] NGUYEN T B T, KETSA S, DOORN W G V. Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 30(2):187-193.
 - [17] 张继明,张新,李喜宏,等.灵武长枣简约冷链物流中蓄冷保温关键参数研究[J].食品工业,2018,39(1):132-135.
 - [18] 姜云斌,佟伟,王文辉,等.1-MCP处理对歇马杏采后保鲜效果的影响[J].辽宁农业科学,2009(2):10-13.