

# 金线莲植物叶提取物毒理学安全性评价的实验研究

刘志光, 胡余明, 尹晓晨, 易传祝, 何珊, 张莹莹, 李梓民

湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

**摘要:** **目的** 对金线莲植物叶提取物的安全性进行研究。 **方法** 根据《食品安全性毒理学评价程序和方法 (GB 15193-2003)》进行小鼠急性经口毒性试验、Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验、大鼠致畸试验、大鼠 90 d 喂养试验。 **结果** 小鼠急性经口毒性试验最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD) 大于 35.00 g/(kg·bw), 属无毒级; 8~5 000 µg/皿剂量 Ames 试验结果为阴性, 2.50~10.00 g/(kg·bw) 剂量小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验及小鼠精子畸形试验结果均为阴性, 2.92~8.75 g/(kg·bw) 剂量对大鼠不具母体毒性、胚胎毒性和致畸作用; 5.83~17.50 g/(kg·bw) 剂量大鼠 90 d 喂养试验对大鼠的体重增长、进食量、食物利用率、血常规指标、血生化指标、脏器重量、脏器/体重比值均无异常变化, 大体解剖和组织病理检查均未见与金线莲植物叶提取物有关的异常改变。 **结论** 在本实验条件下, 金线莲植物叶提取物未见明显毒副作用。

**关键词:** 金线莲; 急性毒性; 遗传毒性; 致畸性; 亚慢性毒性; 食品安全

**中图分类号:** R994.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2020)09-1072-05 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.09.013

## Experimental study on toxicological safety evaluation of extractive from *Anoectochilus roxburghii* leaves

LIU Zhi-guang, HU Yu-ming, YIN Xiao-chen, YI Chuan-zhu, HE Shan, ZHANG Ying-ying, LI Zhi-min

Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: HU Yu-ming, E-mail: Huyuming@vip.sina.com

**Abstract:** **Objective** To study the toxicological safety of extractive from *Anoectochilus roxburghii* leaves. **Methods** According to the Food Safety Toxicology Evaluation Procedures and Methods, we conducted the tests like acute oral toxicity test in mice, genetic toxicity test in mice (Ames test, bone marrow cell micronucleus test and sperm abnormality test), teratogenic test and 90-day feeding test in rats. **Results** The maximum tolerated dose of mice treated with *Anoectochilus roxburghii* leaves was more than 35.00 g/(kg·bw), which belonged to an actual non-toxicity substance. The result of Ames test was negative under 8~5,000 µg/plate dosage. No positive results were found in micronuclear test and sperm abnormality test under 2.50~10.0 g/(kg·bw) dosage of extractive from *Anoectochilus roxburghii* leaves. There was no toxicity in pregnant rats and embryo, and no teratogenicity was found in rat embryo treated with 2.92~8.75 g/(kg·bw) dosage of extractive from *Anoectochilus roxburghii* leaves. There were no related adverse effects on body weight, food intake, food consumption, hematology, serum biochemistry and histopathology in rats under 5.83~17.50 g/kg·bw dosage of extractive from *Anoectochilus roxburghii* leaves.

**Conclusions** Under these experimental conditions, no obvious toxic and side effects were observed in extractive from *Anoectochilus roxburghii* leaves.

**Key words:** *Anoectochilus roxburghii*; acute toxicity; genetic toxicity; abnormality; subchronic toxicity; food safety

金线莲(*Anoectochilus roxburghii*) 又名金蚕、金线兰、金石松, 为兰科开唇兰属(*anoectochilus* B1) 多年生草本植物, 在民间有“药王”“金草”的雅称<sup>[1-2]</sup>。有实验研究报道, 金线莲含有生物碱、氨基酸、黄酮类、多糖类、甾醇类、皂苷和挥发油等多种化学成分, 其中黄酮类和多糖类为其主要活性成分<sup>[3-4]</sup>; 具有保肝、抗

HBV、降压、强心、降血脂、降血糖、镇痛、抗炎、抗氧化、抗癌等药理活性, 主要用于治疗高血压、糖尿病、心脏病、肺炎、急慢性肝炎、肾炎等<sup>[5-9]</sup>。目前, 尚未对其进行系统的毒理学安全性评价研究, 限制了其开发利用。本研究依照《食品安全性毒理学评价程序和方法 (GB 15193-2003)》的要求, 通过急性毒性试验、遗传毒性试验、致畸试验、亚慢性毒性试验对金线莲植物叶提取物进行系统的毒理学安全性评价, 为其开发利用提供食用安全依据。

**基金项目:** 湖南省卫生计生委科研基金课题 (132015-134)

**作者简介:** 刘志光 (1979-), 男, 湖南常德人, 本科学历, 主管技师, 研究方向: 毒理检验。

**通信作者:** 胡余明, E-mail: Huyuming@vip.sina.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 受试物 金线莲植物叶由国内某公司提供,厂家推荐食用量为每日 3.5 g,依据 GB 15193-2003 的受试物处理方法进行处理:称取金线莲植物叶 875 g,加入 85 ℃ 的蒸馏水 8 750 ml,于常压、85 ℃ 浸泡 30 min,提取两次,合并提取液并浓缩至 500 ml,浸泡浓缩液 1 ml 相当于金线莲植物叶 1.75 g。

1.1.2 实验动物及实验环境 SPF 级 KM 种小鼠和 SD 大鼠由长沙市天勤生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(湘)2014-0011。实验环境:屏障环境,温度 22 ℃~24 ℃,湿度 50%~56%,实验动物使用许可证号为 SYXK(湘)2010-0010、2010-0011。

1.1.3 Ames 菌株 TA97、TA98、TA100、TA102 由美国 Moltox 公司提供。

1.1.4 主要仪器及试剂 BECKMAN COULTER AU680 全自动生化分析仪;SYSMEX XT-2000i 全自动血球计数仪;Finesse E+旋转石蜡切片机;Nikon Eclipse E200 生物显微镜;DGX-9073B-1 型培养箱;SX-500 型高压灭菌器;桂林广陆电子数显卡尺等。环磷酰胺购自上海瑞永生物科技有限公司,生化试剂由上海复星长征医学科学有限公司提供,血球仪试剂由希森美康医用电子(中国)有限公司提供,其余试剂均为分析纯或生物级。

### 1.2 实验方法

1.2.1 小鼠急性经口毒性试验 采用最大耐受剂量法(test of maximum tolerated dose, MTD),取 18~22 g 的昆明种雌、雄小鼠各 10 只。取受试物给小鼠一次性经口灌胃,灌胃体积 20 ml/(kg·bw),折合剂量 35.00 g/(kg·bw)。灌胃前禁食 16 h,灌胃后连续观察 14 d,记录中毒表现和死亡情况。

1.2.2 Ames 试验 采用经鉴定符合要求的鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型 TA97、TA98、TA100 和 TA102 四株菌株进行试验。试验五个剂量分别为 8、40、200、1 000、5 000 μg/皿,同时设溶剂对照、自发回变和阳性突变剂对照。采用多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCB)诱导的大鼠肝微粒体酶 S-9 作为体外代谢活化系统。在顶层琼脂中加入 0.1 ml 试验菌株增菌液、0.1 ml 受试物溶液和 0.5 ml 大鼠肝微粒体酶 S-9 混合液(当需要代谢活化时),混匀后倒入底层培养基平板上。37 ℃ 培养 48 h,计数每皿菌落数,如果受试物的回变菌落数超过自发回变菌落数的 2 倍以上,并有剂量-反应关系者判为阳性。

1.2.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 采用间隔

24 h 2 次经口灌胃法试验。取 25~30 g 的昆明种雌、雄小鼠各 25 只,按体重随机分为 5 组。阴性对照为蒸馏水,阳性对照为 0.04 g/(kg·bw)剂量的环磷酰胺(cyclophosphamide, CP)。试验组低、中、高剂量分别为 2.50、5.00、10.00 g/(kg·bw)。于末次灌胃后 6 h 颈椎脱臼处死小鼠,取胸骨骨髓制片、染色,在油镜下,每只小鼠计数 1 000 个嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE)中含有微核的 PCE 数,即微核率(‰)。计数 200 个 PCE,计算 PCE 与成熟红细胞(normochromatic erythrocyte, NCE)的比值(PCE/NCE)。

1.2.4 小鼠精子畸形试验 取 25~35 g 的雄性昆明种小鼠 25 只,按体重随机分为 5 组。阴性对照为蒸馏水,阳性对照为 0.04 g/(kg·bw)剂量的环磷酰胺。试验组低、中、高剂量分别为 2.50、5.00、10.00 g/(kg·bw)。连续灌胃 5 d,于末次灌胃后 30 d 处死动物,取两侧附睾常规制片、染色,每只小鼠计数 1 000 个结构完整的精子,计算精子畸形率。

1.2.5 大鼠致畸试验 选用性成熟雌性 SD 大鼠 120 只,雄性大鼠 60 只,雌雄按 1:1 同笼,每天早晨阴道涂片或检查阴栓,查出精子或阴栓,则认为该鼠已交配。当天作为“受孕”零天。若 5 d 内未交配,更换雄鼠,将检出的孕鼠 60 只按体重随机分为 5 组:阴性对照组、阳性对照组和受试物低、中、高三个剂量组,每组 12 只大鼠。孕鼠单笼饲养并保证充足饮水和饲料供应。于受孕的第 7~16 d,各剂量组按低、中、高剂量 2.92、5.83、8.75 g/(kg·bw)给予不同剂量的受试液,阴性对照组给予等体积蒸馏水,阳性对照组给予等体积 0.27 g/(kg·bw)剂量的阿司匹林。在第 20 d 处死孕鼠,进行各项检查及记录数据。

1.2.6 大鼠 90 d 喂养试验 取 60~90 g SD 大鼠雌、雄各 40 只。按体重随机分为 4 组。试验组低、中、高剂量分别为 5.83、11.67、17.50 g/(kg·bw)。对照组用蒸馏水,连续灌胃 90 d。实验期间大鼠单笼饲养,自由饮食,观察大鼠的生长活动情况和中毒表现,记录大鼠体重和摄食量,计算食物利用率。实验中期和末期分别采眼球血检测血液学指标,实验末期对大鼠进行大体解剖检查和主要脏器的组织病理检查。

1.3 统计学分析 用 SPSS 19.0 进行统计分析。采用单因素方差分析或秩和检验进行均数比较, Dunnett-*t*法或 Tamhane's *T*<sub>2</sub> 检验进行剂量组间的两两比较,率的比较采用  $\chi^2$  检验或精确概率法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 小鼠急性毒性试验 染毒后小鼠均无明显中毒症状,观察 2 周无死亡。观察期末将小鼠处死进行解剖检查,肺、心、肝、胃、脾、肾、肠等主要脏器,均无明显异常改变。金线莲植物叶提取物对昆明种雌、雄小鼠的 MTD 大于 35.00 g/(kg·bw)。根据 GB 15193-2003 中的急性毒性分级标准,属无毒级。

2.2 细菌回复突变(Ames)试验 试验结果表明,金线莲植物叶提取物对 TA97、TA98、TA100、TA102 四株试验菌株,加与不加大鼠肝微粒体酶 S-9,各剂量组回

变菌落数均未超出自发回变菌落数的 2 倍,亦无剂量-反应关系,说明本试验金线莲植物叶提取物未被观察到具有诱变性。

2.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 试验结果表明,阳性对照组微核率与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),各剂量组微核率与阴性对照组比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。各剂量组 PCE/NCE 比值均未少于阴性对照组的 20%,表明金线莲植物叶提取物对小鼠骨髓细胞无明显毒性,见表 1。

表 1 金线莲植物叶提取物小鼠骨髓嗜多染红细胞(PCE)微核试验结果

性别	组别	动物数(只)	剂量[g/(kg·bw)]	受检 PCE 数(个)	含微核 PCE 数(个)	微核率( $\bar{x}\pm s, \%$ )	受检 PCE 数(个)	NCE 数(个)	PCE/NCE( $\bar{x}\pm s$ )
雄	高剂量组	5	10.00	5 000	5	1.0 $\pm$ 1.0	1 000	883	1.139 $\pm$ 0.101
	中剂量组	5	5.00	5 000	4	0.8 $\pm$ 0.4	1 000	894	1.126 $\pm$ 0.106
	低剂量组	5	2.50	5 000	7	1.4 $\pm$ 0.5	1 000	866	1.160 $\pm$ 0.092
	阴性对照组	5	0.00	5 000	6	1.2 $\pm$ 0.8	1 000	882	1.143 $\pm$ 0.116
	阳性对照组	5	0.04(CP)	5 000	125	25.0 $\pm$ 3.1 <sup>a</sup>	1 000	969	1.037 $\pm$ 0.080
雌	高剂量组	5	10.00	5 000	7	1.4 $\pm$ 0.9	1 000	896	1.123 $\pm$ 0.102
	中剂量组	5	5.00	5 000	4	0.8 $\pm$ 0.8	1 000	881	1.141 $\pm$ 0.096
	低剂量组	5	2.50	5 000	5	1.0 $\pm$ 1.0	1 000	897	1.122 $\pm$ 0.104
	阴性对照组	5	0.00	5 000	8	1.6 $\pm$ 0.5	1 000	872	1.151 $\pm$ 0.081
	阳性对照组	5	0.04(CP)	5 000	133	26.6 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>	1 000	957	1.049 $\pm$ 0.077

注:a 微核率阳性对照组与阴性对照组比较, $P<0.01$ 。

2.4 小鼠精子畸形试验 试验结果表明,环磷酰胺阳性组精子畸形率与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),各剂量组精子畸形率与阴性对照组比较差

异均无统计学意义( $P>0.05$ ),表明金线莲植物叶提取物不会导致小鼠精子畸变作用,见表 2。

表 2 金线莲植物叶提取物小鼠精子畸形试验结果

组别	动物数 (只)	剂量 [g/(kg·bw)]	受检精子数 (个)	畸形总数	畸形率 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )	各类精子畸形的构成比(%)						
						无钩	香蕉形	胖头	无定形	尾折叠	双头	双尾
高剂量组	5	10.00	5 000	116	2.32 $\pm$ 0.29	34.5	12.9	14.7	37.9	0.0	0.0	0.0
中剂量组	5	5.00	5 000	125	2.50 $\pm$ 0.33	27.2	14.4	20.8	37.6	0.0	0.0	0.0
低剂量组	5	2.50	5 000	113	2.26 $\pm$ 0.36	31.0	15.0	14.2	39.8	0.0	0.0	0.0
阴性对照组	5	0.00	5 000	124	2.48 $\pm$ 0.24	29.0	12.1	18.5	40.3	0.0	0.0	0.0
阳性对照组	5	0.04(CP)	5 000	420	8.40 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup>	27.1	21.7	19.0	31.7	0.0	0.0	0.5

注:a 畸形率阳性对照组与阴性对照组比较, $P<0.01$ 。

2.5 大鼠致畸试验 试验期间,孕鼠无明显流产征象,大体解剖均未见明显异常。阳性对照组孕鼠增重与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),各剂量组与阴性对照组比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。阳性对照组孕鼠子宫连胎盘重、孕鼠死胎和吸收胎的发生率、活胎数与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),各剂量组孕鼠和胚胎上述指标与阴性对照组比较差异均无统计学意义( $P>$

0.05),见表 4。阳性对照组胎鼠体重、体长、尾长与阴性对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),各剂量组上述指标与阴性对照组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ );阳性对照组、各剂量组雄/雌比例与阴性对照组比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 5。各剂量组胎鼠外观、内脏、骨骼发育均未见异常。在本实验条件下,未发现金线莲植物叶提取物对大鼠具有母体毒性、胚胎毒性和致畸作用。

表 3 金线莲对孕鼠体重的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	受孕鼠数 (只)	第 0 d		第 7 d		第 12 d		第 16 d		第 20 d		增重	
		体重(g)	P 值	体重(g)	P 值	体重(g)	P 值	体重(g)	P 值	体重(g)	P 值	体重(g)	P 值
阴性对照	12	289.3 $\pm$ 19.8		320.8 $\pm$ 22.3		348.2 $\pm$ 24.8		374.1 $\pm$ 26.4		402.8 $\pm$ 26.8		113.5 $\pm$ 12.7	-
低剂量	12	290.2 $\pm$ 17.8		318.5 $\pm$ 18.5		349.7 $\pm$ 20.2		378.3 $\pm$ 19.8		405.4 $\pm$ 22.3		115.2 $\pm$ 15.9	0.992
中剂量	12	291.2 $\pm$ 17.9	0.999	321.0 $\pm$ 19.4	0.892	352.7 $\pm$ 19.4	0.653	378.4 $\pm$ 21.1	0.289	407.5 $\pm$ 22.4	0.057	116.3 $\pm$ 9.9	0.956
高剂量	12	291.3 $\pm$ 20.5		318.9 $\pm$ 20.3		348.5 $\pm$ 21.8		378.5 $\pm$ 23.0		406.0 $\pm$ 22.2		114.6 $\pm$ 13.3	0.999
阳性对照	12	291.0 $\pm$ 17.4		313.6 $\pm$ 17.8		339.8 $\pm$ 18.9		361.8 $\pm$ 18.8		382.9 $\pm$ 18.5		91.9 $\pm$ 11.5 <sup>a</sup>	0.000

注:a 阳性对照组增重与阴性对照组比较, $P<0.01$ 。

表 4 金线莲植物叶提取物对孕鼠胚胎毒性指标的影响

组别	剂量 [g/(kg·bw)]	卵巢重(g)		子宫连胎盘重(g)		胎盘重(g)		活胎数(只)			死胎 数(只)	吸收胎 数(只)	死胎及吸收胎发生率	
		$\bar{x}\pm s$ (g)	P 值	$\bar{x}\pm s$ (g)	P 值	$\bar{x}\pm s$ (g)	P 值	总数	$\bar{x}\pm s$ (只)	P 值			(%)	P 值
阴性对照组	0.00	0.147±0.012		64.40±8.42	—	5.85±0.95		145	12.1±1.4	—	1	0	0.68	—
低剂量组	2.92	0.148±0.017		64.76±8.31	1.000	6.20±0.90		138	11.5±1.8	0.852	2	0	1.43	0.617
中剂量组	5.83	0.150±0.015	0.219	66.66±8.78	0.906	5.96±0.98	0.134	148	12.3±1.9	0.992	0	1	0.67	1.000
高剂量组	8.75	0.151±0.013		67.55±6.94	0.758	6.20±1.04		144	12.0±2.0	1.000	1	0	0.69	1.000
阳性对照组	0.27(aspirin)	0.138±0.012		45.94±8.77 <sup>a</sup>	0.000	5.31±0.82		116	9.7±2.0 <sup>a</sup>	0.008	7	5	9.38 <sup>a</sup>	0.001

注:a 阳性对照组与阴性对照组比较,P<0.01。

表 5 金线莲植物叶提取物对胎鼠体重、体长、尾长的影响

组别	剂量 [g/(kg·bw)]	活胎数 (只)	雄/雌		体重		体长		尾长	
			比例	P 值	$\bar{x}\pm s$ (g)	P 值	$\bar{x}\pm s$ (mm)	P 值	$\bar{x}\pm s$ (mm)	P 值
阴性对照组	0.00	145	0.99(72/73)	—	3.75±0.38	—	37.20±1.23	—	13.65±0.61	—
低剂量组	2.92	138	1.03(70/68)	0.857	3.83±0.41	0.304	37.24±1.35	1.000	13.65±1.30	0.896
中剂量组	5.83	148	0.74(63/85)	0.224	3.72±0.39	0.965	37.21±1.31	1.000	13.72±0.82	0.994
高剂量组	8.75	144	1.06(74/70)	0.768	3.86±0.45	0.083	37.60±1.27	0.073	13.75±0.77	0.934
阳性对照组	0.27(aspirin)	116	0.93(56/60)	0.825	3.16±0.48 <sup>a</sup>	0.000	35.51±1.68 <sup>a</sup>	0.000	13.10±0.64 <sup>a</sup>	0.000

注:a 阳性对照组与阴性对照组比较,P<0.01。

2.6 大鼠 90 d 喂养试验 试验期间,各组大鼠活动正常,生长发育良好,无异常行为、中毒症状和死亡情况。各剂量组大鼠体重、进食量、食物利用率指标与对照组比较差异均无统计学意义(P>0.05),见表 6。各剂量组大鼠血液学指标和生化指标与对照组比较,差异均

无统计学意义(P>0.05),见表 7、表 8。各剂量组大鼠的脏器重量、脏器比值与对照组比较差异均无统计学意义(P>0.05),见表 9。大体解剖和组织病理检查未见与金线莲植物叶提取物有关的异常改变。提示金线莲植物叶提取物 90 d 喂养对大鼠未见明显毒副作用。

表 6 金线莲植物叶提取物 90 d 喂养试验对大鼠体重及食物利用率的影响( $\bar{x}\pm s$ )

性别	组别	动物数(只)	剂量[g/(kg·bw)]	初重(g)	实验末期体重(g)	增重(g)	进食量(g)	食物利用率(%)
雄	对照组	10	0.00	79.3±7.0	493.0±44.9	413.6±44.2	2352.4±101.8	17.6±2.1
	低剂量组	10	5.83	79.3±7.0	488.9±38.0	409.6±38.5	2322.9±140.5	17.6±1.4
	中剂量组	10	11.67	79.9±5.9	505.0±50.6	425.2±52.0	2386.9±91.2	17.9±2.5
	高剂量组	10	17.50	80.0±6.9	502.4±34.4	422.5±29.5	2357.5±122.2	17.9±1.1
雌	对照组	10	0.00	78.6±6.7	359.6±48.4	281.0±47.4	2058.1±103.7	13.7±2.5
	低剂量组	10	5.83	78.5±6.8	362.8±31.5	284.4±28.8	2062.2±105.9	13.8±1.2
	中剂量组	10	11.67	78.5±5.4	355.7±34.7	277.2±34.2	2053.7±135.7	13.5±1.5
	高剂量组	10	17.50	79.0±6.3	371.2±40.3	292.2±37.1	2087.5±123.0	14.0±2.0

注:各剂量组与对照组比较,P>0.05。

表 7 金线莲植物叶提取物 90 d 喂养试验大鼠末期血液学检查结果( $\bar{x}\pm s$ )

性别	组别	动物数 (只)	剂量 [g/(kg·bw)]	血红蛋白 (g/L)	红细胞总数 (10 <sup>12</sup> /L)	红细胞压积 (L/L)	血小板总数 (10 <sup>9</sup> /L)	白细胞计数 (10 <sup>9</sup> /L)	淋巴细胞 (%)	中性粒细胞 (%)	单核细胞 (%)	嗜酸性粒细胞 (%)	嗜碱性粒细胞 (%)
雄	对照组	10	0.00	148±5	7.88±0.39	0.422±0.020	767±156	8.84±2.85	70.64±4.46	22.02±4.04	6.13±1.90	1.06±0.86	0.15±0.07
	低剂量组	10	5.83	147±7	7.95±0.44	0.434±0.028	696±181	8.52±2.16	72.40±5.95	20.95±5.87	5.59±2.09	0.90±0.38	0.16±0.07
	中剂量组	10	11.67	145±7	7.76±0.55	0.420±0.011	784±198	9.36±1.78	71.52±5.32	21.42±5.11	6.02±1.51	0.92±0.54	0.12±0.04
	高剂量组	10	17.50	148±5	7.89±0.34	0.422±0.017	774±137	8.72±1.89	71.47±7.43	21.05±6.43	6.30±2.38	1.05±0.56	0.13±0.05
雌	对照组	10	0.00	145±10	7.64±0.62	0.419±0.032	772±144	10.41±4.29	71.83±8.39	21.09±8.16	6.04±1.12	0.89±0.42	0.15±0.05
	低剂量组	10	5.83	146±6	7.67±0.29	0.418±0.018	784±150	9.86±2.82	71.08±5.82	21.44±4.81	6.42±1.43	0.92±0.44	0.14±0.05
	中剂量组	10	11.67	143±7	7.94±0.71	0.427±0.025	716±214	10.31±2.69	70.37±6.76	22.81±4.99	5.90±1.90	0.76±0.67	0.16±0.07
	高剂量组	10	17.50	147±11	7.78±0.78	0.413±0.037	759±148	10.25±3.15	70.58±7.03	21.72±6.09	6.45±1.98	1.10±0.95	0.15±0.05

注:各剂量组与对照组比较,P>0.05。



表 8 金线莲植物叶提取物 90 d 喂养试验大鼠末期生化检验结果(  $\bar{x}\pm s$  )

性别	组别	动物数 (只)	剂量 [g/(kg·bw)]	ALT (U/L)	AST (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	CHOL (mmol/L)	TG (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)	Glu (mmol/L)
雄	对照组	10	0.00	54.00±4.78	164.76±25.28	64.56±2.62	32.11±1.01	1.94±0.36	0.92±0.25	5.35±0.39	53.07±2.63	5.03±0.65
	低剂量组	10	5.83	55.10±6.40	165.70±18.73	64.09±3.43	31.32±1.28	1.91±0.32	0.83±0.19	5.14±0.42	53.20±2.62	4.89±0.43
	中剂量组	10	11.67	55.45±7.17	149.46±27.42	64.70±3.64	31.63±1.96	1.97±0.35	0.91±0.19	5.37±0.54	51.92±2.35	5.05±0.28
	高剂量组	10	17.50	53.57±7.70	161.95±19.55	65.27±2.88	32.21±1.73	1.89±0.29	0.92±0.28	5.29±0.57	52.29±2.88	4.98±0.50
雌	对照组	10	0.00	49.70±6.18	168.03±17.32	67.87±4.57	33.56±3.09	2.03±0.25	0.98±0.09	5.61±0.66	54.48±3.33	5.34±0.32
	低剂量组	10	5.83	50.62±6.09	164.63±29.19	67.42±5.55	33.16±3.15	2.08±0.43	0.93±0.17	5.50±0.72	54.21±2.22	5.10±0.31
	中剂量组	10	11.67	48.64±5.82	174.68±20.97	68.75±4.47	34.08±2.60	1.95±0.24	0.90±0.13	5.55±0.50	56.46±4.02	5.14±0.42
	高剂量组	10	17.50	49.26±4.81	158.30±29.87	68.56±5.40	33.59±3.42	2.03±0.53	0.94±0.24	5.64±0.87	55.27±3.41	5.29±0.27

注:各剂量组与对照组比较, $P>0.05$ 。

表 9 金线莲植物叶提取物 90 d 喂养对大鼠脏器重量、脏器比值的影响(  $\bar{x}\pm s$  )

性别	组别	动物数 (只)	剂量 [g/(kg·bw)]	实验末禁食 16 h 后体重(g)	肾脏 (g)	肾脏/体重 (%)	脾脏 (g)	脾脏/体重 (%)	肝脏 (g)	肝脏/体重 (%)	睾丸 (g)	睾丸/体重 (%)
雄	对照组	10	0.00	467.0±44.9	2.90±0.31	0.62±0.09	1.40±0.21	0.30±0.07	14.01±1.29	3.02±0.38	4.09±0.27	0.89±0.13
	低剂量组	10	5.83	463.6±38.0	2.87±0.32	0.63±0.12	1.35±0.19	0.29±0.05	13.73±1.43	2.97±0.25	3.96±0.36	0.86±0.13
	中剂量组	10	11.67	479.0±49.7	2.92±0.28	0.61±0.09	1.43±0.14	0.30±0.05	14.70±1.17	3.10±0.39	4.24±0.33	0.90±0.14
	高剂量组	10	17.50	478.3±34.6	3.08±0.31	0.65±0.08	1.51±0.18	0.32±0.06	14.43±1.38	3.03±0.30	4.17±0.35	0.88±0.12
雌	对照组	10	0.00	338.8±49.3	2.19±0.26	0.66±0.14	1.03±0.17	0.31±0.07	10.27±1.28	3.06±0.40	-	-
	低剂量组	10	5.83	341.6±31.7	2.16±0.21	0.64±0.11	1.02±0.17	0.30±0.06	10.55±1.40	3.10±0.43	-	-
	中剂量组	10	11.67	334.3±34.5	2.22±0.23	0.67±0.12	1.12±0.18	0.34±0.08	10.08±1.09	3.02±0.30	-	-
	高剂量组	10	17.50	348.8±40.0	2.12±0.18	0.62±0.08	1.09±0.16	0.32±0.07	10.70±1.10	3.08±0.32	-	-

注:各剂量组与对照组比较, $P>0.05$ 。

3 讨 论

近年来,人们对自身的健康问题日益关注,对保健食品的需求越来越大。但新资源食品和中药安全事件屡有报道,如比利时的肾毒性事件、新加坡的黄连素事件、国内发生的鱼腥草事件等,人们对新资源食品的安全问题产生了怀疑,因此,新资源食品和中药安全越来越受到重视<sup>[10-11]</sup>。金线莲在民间的应用已有数百年历史,其具有许多优良的药理作用,但其安全性问题却很少有人涉足,仅有李鸣等<sup>[12]</sup>对野生、人工栽培、组织培养三种金线莲进行了急性毒性试验,研究表明三种金线莲水煎液毒性很小,对小鼠口服的最大耐受量分别为 100、85、42.5 g/kg。本研究系统全面地对金线莲植物叶提取物进行了毒理学安全性评价,金线莲植物叶提取物对昆明种小鼠的 MTD 大于 35.00 g/(kg·bw),根据 GB 15193-2003 中的急性毒性分级标准,属无毒级;遗传毒性试验为阴性结果,表明金线莲植物叶提取物未显示致突变作用;致畸试验研究结果表明金线莲植物叶提取物对 SD 大鼠不具母体毒性、胚胎毒性和致畸作用;大鼠 90 d 喂养试验结果显示金线莲植物叶提取物对 SD 大鼠体重、摄食、血常规、血生化及病理无影响。在本实验条件下,未观察

到金线莲植物叶提取物对哺乳动物产生遗传毒性、致畸性和亚慢性毒性作用,依据 GB 15193.1-2003,金线莲植物叶为安全性受试物,可以作为新资源食品开发利用。

参考文献

[1] 郎楷永,陈心启,罗毅波,等.中国植物志(第 17 卷)[M].北京:北京科学出版社,1999:204-227.

[2] 赵国平,戴慎,陈仁寿,等.中药大辞典[M].第 2 版.上海:上海科学技术出版社,2005:1956-1957.

[3] 肖小华,林彩霞,吴序栎,等.金线莲的化学成分及生物活性研究进展[J].现代食品科技,2018,34(5):267-275.

[4] 王晋成.金线莲化学成分研究进展[J].东南园艺,2014,42(6):68-74.

[5] 崔仕超.金线莲活性物质的提取及生理活性的研究[D].汕头:汕头大学,2010.

[6] 陈焰,陈新峰,阙万才,等.金线莲挥发油成分的提取及其体外抗肿瘤作用研究[J].中国药业,2012,21(6):21-22.

[7] 周云.金线莲的化学成分、药理活性及临床应用研究进展[J].继续医学教育,2017,31(8):154-155.

[8] 安彦峰,张雅琼,冯德强.金线莲药理和临床研究进展[J].中国现代中药,2014,16(8):685-687.

[9] 吴丽丽,梁燕,许光辉.金线莲化学成分药理作用及临床应用研究概述[J].海峡药学,2014,26(10):34-36.

[10] 李宁.国内外新资源食品管理法规和安全性评价[J].中国卫生监督杂志,2011,18(1):11-14.

[11] 李硕,李敏,卫营芳,等.中药安全性评价的研究进展[J].中国现代中药,2014,16(2):172-176.

[12] 李鸣,邹丹.3 种不同来源金线莲的药理研究[J].海峡药学,1995,7(4):12-14.

收稿日期:2019-12-19