

# 霍山石斛口服液安全性研究

马荣锋, 王升贵\*, 田小军

(九仙尊霍山石斛股份有限公司, 上海 201199)

**摘要:** **目的** 评价霍山石斛口服液食用的安全性。**方法** 依据 GB 15193.1-2014《食品安全国家标准 食品安全性毒理学评价程序》, 对霍山石斛口服液进行急性毒性实验、Ames 实验、小鼠骨髓细胞微核实验、小鼠精子畸形实验、30 d 喂养实验。**结果** 小鼠对霍山石斛口服液最大耐受剂量(maximal tolerable dose, MTD)大于 40 mL/kg BW, 属无毒级; Ames 实验显示小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形实验均检测为阴性; 当霍山石斛口服液剂量达到 10.0 mL/kg BW 时, 仍未见实验动物出现中毒体征。**结论** 霍山石斛口服液无毒副作用, 无遗传毒性, 安全性高, 可长期食用。

**关键词:** 霍山石斛口服液; 可食用; 安全性评价

## Study on the safety of *Dendrobium huoshanense* oral solution

MA Rong-Feng, WANG Sheng-Gui\*, TIAN Xiao-Jun

(Jiuxianzun Huoshan *Dendrobium huoshanense* Co., Ltd., Shanghai 201199, China)

**ABSTRACT: Objective** To evaluate the safety of *Dendrobium huoshanense* oral solution for consumption. **Methods** According to GB 15193.1-2014 Food safety national standard-Food safety toxicology evaluation procedure, acute toxicity test, Ames test, mouse bone marrow cell micronucleus test, mouse sperm abnormality test and 30 d feeding experiment were conducted on *Dendrobium huoshanense* oral solution. **Results** The maximum tolerable dose (MTD) of the mice to *Dendrobium huoshanense* oral solution was greater than 40 mL/kg BW, which was non-toxic. Ames experiments showed that mouse bone marrow cells micronucleus test and mouse sperm abnormality test were negative. When the oral dose of *Dendrobium huoshanense* oral solution reached 10.0 mL/kg BW, no poisoning signs were found in the experimental animals. **Conclusion** *Dendrobium huoshanense* oral solution has no toxic side effects, no genotoxicity, high safety and it is suitable for long-term consumption.

**KEY WORDS:** *Dendrobium huoshanense* oral solution; edible; safety evaluation

## 1 引言

霍山石斛(*Dendrobium huoshanense*), 又称为米斛, 是兰科石斛属的草本植物。主要生长于安徽省的霍山县, 属国家一级濒危保护植物, 也是石斛中唯一有国家地理标志的产品。在清代赵学敏所著的《本草纲目拾遗》中记载“霍石

斛出江南霍山, 形较钗斛细小, 色黄...<sup>[1]</sup>。但霍山石斛作为石斛中高档次的品种, 其野外自然繁殖率低, 产业发展受限, 直到本世纪才开始规模化种植, 其加工方式基本停留在鲜条、枫斗层面上, 深加工产品不多。已活跃在市场上的有颗粒、浸膏等产品, 口服液类的剂型尚未发现。作为中草药类的口服液剂型, 省去了煎药的麻烦, 而且作为溶液型, 吸收也

基金项目: 安徽省重点研究和开发计划项目(1804a0802220)

Fund: Supported by the Key Research and Development Projects in Anhui Province (1804a0802220)

\*通讯作者: 王升贵, 执业药师, 主要研究方向为植物多糖及应用。E-mail: wangshenggui@jgsteel.cn

\*Corresponding author: WANG Sheng-Gui, Licensed Pharmacist, Jiuxianzun *Dendrobium huoshanense* Co., Ltd., No.999, Lian Road, Minhong District, Shanghai 201199, China. E-mail: wangshenggui@jgsteel.cn

快, 因此开发霍山石斛口服液具有现实意义。

霍山石斛口服液以霍山石斛、桑白皮、黄精为主要原料, 经提取、浓缩、静置、过滤、灭菌等工艺, 加工而成。其中, 霍山石斛的食用历史久远<sup>[2]</sup>, 它含有多糖、类黄酮、多酚、生物碱等活性成分, 具有增强免疫力、降血糖、抗肿瘤、护肝等功能<sup>[3,4]</sup>。而桑白皮为桑科植物桑树的干燥根皮, 性甘、寒, 归肺经, 具有泻肺平喘, 利水消肿等功效<sup>[5]</sup>, 现代药理研究还表明其有降血糖的功效<sup>[6,7]</sup>。黄精则属于百合科黄精属植物, 味甘、性平, 具有补中益气、润心肺、补肾益精、强筋骨、安五脏、止寒热、填精髓等功效, 现代研究表明其有降血糖、抗氧化、降血脂、抑菌抗炎等功效<sup>[8]</sup>。可见三种原料在现代药理研究中都有某些相同的功效, 同时也具有各自独特的一面。

在安全性研究方面, 就单一石斛原料而言, 陈建国等<sup>[9]</sup>研究了金钗石斛, 冯旭等<sup>[10]</sup>研究了铁皮石斛原球茎, 傅剑云等<sup>[11]</sup>研究了铁皮石斛提取液在各自的毒理受试试验中均未见任何毒副作用。作为石斛属中的亲缘种霍山石斛李滨等<sup>[12]</sup>对其研究发现, 经过动物急性毒性试验、遗传毒性试验和 30 d 喂养试验后霍山石斛最大观察到的有害作用剂量为 20.0 g/kg, 无急性毒性、亚急性毒性或致突变作用, 食用安全。尚贞子等<sup>[13]</sup>采用动物急性毒性试验、3 项遗传毒性试验、90 d 喂养试验和致畸试验对霍山石斛茎的食用安全性进行评价。冯克玉等<sup>[14]</sup>发现桑白皮醇提液有降压作用, 而且还对其进行急性毒性和亚急性毒性试验, 都未发现小鼠、大鼠和犬有任何异常。2002 年, 黄精在《关于进一步规范保健食品原料管理的通知》(卫法监发[2002]51 号)中被列入既是食品又是药品的物品名单, 冯敬群等<sup>[15]</sup>对黄精不同炮制品的毒性进行研究发现炮制后的黄精灌胃小鼠后, 小鼠均无死亡, 且活动正常。

在含复合成份的制剂安全性研究方面, 李志等<sup>[16]</sup>对霍山石斛姜黄葛根胶囊安全性研究评价得出受试大鼠各脏器指标、生化指标、血液指标等均正常, 无急性和遗传毒性。结果提示, 霍山石斛茎在 5.00 g/kg BW 剂量范围内食用安全。陈秀锦等<sup>[17]</sup>研究石斛西洋参也证明石斛类复方产品的安全性。滕德义等<sup>[18]</sup>通过研究复方桑白皮浓缩液发现, 其对昆明(KM)小鼠的半数致死量大于 160 g/kg, 相当于临床用量德 320 倍以上, 说明其急性毒性很小。陈兴荣等<sup>[19]</sup>研究复方滇黄精提取物的急性毒性时使用了相当于临床推荐量的 409.6 倍量, 仍无法测定半数致死量 LD<sub>50</sub>, 说明其无明显急性毒性。

本研究的霍山石斛口服液所使用的原药材安全性高, 无配伍禁忌, 为进一步验证其安全性, 特对其进行毒理学研究, 以期对霍山石斛的深度开发和应用提供理论依据。

## 2 材料与方 法

### 2.1 材 料

#### 2.1.1 样 品

霍山石斛口服液 6.67 倍浓缩液, 推荐量为 6 mL/d

BW(相当于成品 40 mL/d BW), 主要成为霍山石斛, 桑白皮, 黄精, 由九仙尊霍山石斛股份有限公司提供。保质期 24 个月, 按照成人 60 kg 体重计, 推荐量为 0.1 mL/kg·BW·d。

#### 2.1.2 实验动物

实验用 ICR 小鼠由浙江省实验动物中心提供, SPF 级, 实验动物生产许可证号 SCXK(浙)2014-0001, 实验动物使用许可证号 SYXK(浙)2014-0008。

实验动物检测环境: 温度范围 20~25 °C, 相对湿度范围 40%~70%。实验动物饲料由浙江省实验动物中心提供。

#### 2.1.3 实验菌株

组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌四株, TA97a、TA98、TA100、TA102, 由上海市疾病预防控制中心提供, 并经生物学鉴定合格后进行实验。

#### 2.1.4 实验仪器

FA124 电子分析天平(上海恒平科学仪器有限公司); TEK8530 全自动血液分析仪(江西特康科技有限公司); 蓝韵 LWC400 全自动生化分析仪(深圳市蓝韵实业有限公司); OLMPUS 显微镜(上海维翰光电科技有限公司)。

## 2.2 实验方法

### 2.2.1 小鼠急性经口毒性实验

采用最大耐受量法设样品浓缩液 40 mL/kg BW 一个剂量组, 给予禁食(不禁水)16 h 后的小鼠, 按 20 mL/kg BW 灌胃容量灌胃 2 次, 间隔 4 h, 末次灌胃 2 h 后动物自由进食、饮水, 记录动物在毒性表现及死亡情况。

### 2.2.2 Ames 实验

采用平板渗入法, 选用组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌 TA97a、TA98、TA100、TA102, 设 8、40、200、1000、5000 μg/皿 5 个剂量组, 并设 3 个平行, 外加空白对照、溶剂对照和阳性对照(叠氮钠、敌克松、2-乙酰氨基苄、1,8-二羟基蒽醌), 在加和 不加 S9 条件下进行实验, 重复测试一次, 直接计算培养基上各菌落的回变菌落数。

### 2.2.3 小鼠骨髓细胞微核试验

ICR 级小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 设 5.0、10.0、20.0 mL/kg BW 3 个剂量组, 样品浓缩液作为高剂量组, 分别取样品浓缩液 10.0、20.0 mL, 以蒸馏水为溶媒分别制成 40 mL 溶液, 作为低、中剂量组。另设 1 个阴性对照组(蒸馏水)和 1 个阳性对照组(环磷酰胺 40 mL/kg BW, 称取环磷酰胺 80 mg, 加蒸馏水溶解至 40 mL 备用)。小鼠按 20 mL/kg BW 灌胃容量经口灌胃给予受试物, 灌胃 2 次, 间隔 24 h, 于第 2 次灌胃后 6 h 颈椎脱臼处死, 取胸骨骨髓制成骨髓片, 甲醇固定, Giemsa 染色。镜检每只动物计数 1000 个嗜多染红细胞, 计算微核千分率及 PCE/NCE 值。数据用 SPSS 统计软件进行统计分析。

### 2.2.4 小鼠精子畸形实验

CR 级小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 设 5.0、10.0、20.0 mL/kg BW 3 个剂量组, 样品浓缩液作为高剂量组, 分

别取样品浓缩液 10.0、20.0 mL, 以蒸馏水为溶媒分别制成 40 mL 溶液, 作为低、中剂量组。另设 1 个阴性对照组(蒸馏水)和 1 个阳性对照组(丝裂霉素 C 1.5 mg/kg BW, 称取丝裂霉素 C 1.5 mg, 加生理盐水溶解至 20 mL 备用)。小鼠按 20 mL/kg BW 灌胃容量经口灌胃给予受试物, 连续 5 d, 每 d 1 次。首次灌胃后第 35 d 颈椎脱臼处死, 取两侧附睾, 制成吸滤液直接涂片, 自然干燥, 甲醇固定, 1%伊红染色。高倍镜下观察精子形态并计数, 每只小鼠计数完整精子 1000 条, 计算精子畸形发生率(%)数据用 SPSS 统计软件进行统计分析。

### 2.2.5 30 d 喂养实验

按人体推荐量的 25、50、100 倍为低、中、高 3 个剂量组, 即霍山石斛口服液(浓缩液)2.5、5.0、10.0 mL/kg BW 3 个剂量组, 另设一个阴性对照组。受试大鼠按体重随机分 4 组, 每组 20 只, 每 d 经口灌胃 1 次。实验大鼠自由进食、饮水, 观察并记录动物的一般表现、行为、中毒体征和死亡情况。每周记录体重和进食量并计算食物利用率。实验期末进食过夜, 切断腹主动脉处死。对每只大鼠进行脏器大体观察, 并取肝脏、肾脏、脾脏、胃、十二指肠、睾丸及卵巢进行病理组织学观察及血象指标和血液生化指标观察。

## 3 结果与分析

### 3.1 急性经口毒性试验

实验期间, 各小鼠活动和饮食正常, 生长良好, 各小

鼠均未见明显中毒表现, 也无死亡。见表 1。结果表明, 霍山石斛口服液对雌雄小鼠经口最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD)均大于 40 mL/kg BW, 属无毒级。

表 1 霍山石斛口服液对小鼠经口毒性的影响( $n=10$ )  
Table 1 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on oral toxicity in mice ( $n=10$ )

性别	始重/g	终重/g	死亡情况 (死亡数/组鼠数)	MTD (mL/kg)
雌性	19.7±1.0	25.8±1.1	0/10	>40
雄性	19.7±1.1	28.2±1.4	0/10	>40

### 3.2 Ames 试验

各菌株回变菌落数见表 2。从试验结果可见, 不同浓度受试物在加和不加 S9 条件下的回变菌落与阴性对照组相近似, 而阳性对照组回变菌落数均高于阴性对照组回变菌落数 2 倍以上。霍山石斛口服液 Ames 试验检测结果为阴性。

### 3.3 小鼠骨髓细胞微核试验

雌雄各剂量组 PCE/NCE 比值未低于阴性对照组的 20%, 符合技术规范要求。霍山石斛口服液对小鼠微核率的影响见表 3。与阴性对照组相比, 雌雄各剂量组微核千分率均无显著差异( $P>0.05$ ); 阳性对照组微核率则显著高于阴性对照组, 其差异有非常显著性意义( $P<0.01$ ), 表明霍山石斛口服液对小鼠骨髓细胞微核率未见明显影响, 试验结果为阴性。

表 2 霍山石斛口服液 Ames 试验结果( $n=3$ )  
Table 2 Results of Ames test on *Dendrobium huoshanense* oral solution ( $n=3$ )

受试物	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	回变菌落数( $X\pm\text{SD}$ )							
		TA97a		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
空白对照	0.0	117.7±12.7	142.3±11.1	32.0±4.4	42.7±4.7	133.7±12.0	161.7±13.3	253.3±17.2	291.3±22.3
溶剂对照	0.0	118.3±20.5	151.7±18.5	33.3±5.9	43.3±5.1	142.3±23.8	171.3±20.5	264.7±20.6	302.0±18.1
	8	112.7±8.6	141.3±14.3	32.3±3.5	41.0±4.6	132.7±12.4	160.7±18.0	250.3±21.4	288.3±18.6
	40	109.3±15.3	135.7±9.5	31.0±4.4	36.3±5.5	126.3±16.9	156.3±15.6	246.7±18.5	301.7±22.7
	200	116.7±16.7	147.0±14.9	33.7±4.0	39.7±4.7	143.7±21.4	171.0±21.3	254.3±21.2	282.0±19.7
样品	1000	119.0±20.7	138.3±11.8	30.3±5.9	43.3±5.0	135.0±9.2	168.7±14.7	258.7±15.6	295.3±21.2
	5000	115.7±12.7	149.7±20.7	34.7±4.7	40.7±3.1	140.7±12.2	167.3±8.1	263.3±14.7	297.3±15.0
NaN <sub>3</sub>	2.0	/	/	/	/	2736.7±125.8	/	/	/
Dexon	50	2506.7±61.1	/	1163.3±153.7	/	/	/	846.7±145.0	/
2AAF	10	/	1673.3±191.4	//	4833.3±185.8	/	3066.7±175.0	/	/
1.8HAQ	25	/	/	/	/	/	/	/	906.7±55.1

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

### 3.4 小鼠精子畸形试验

霍山石斛口服液对小鼠精子畸形发生率的影响见表 4。与阴性对照组比较, 各剂量组小鼠精子畸形发生率均无显著性差异( $P>0.05$ ); 阳性对照组则明显高于阴性对照组, 其差别有非常显著性意义( $P<0.01$ ), 表明霍山石斛口服液对小鼠精子畸形发生率未见明显影响, 试验结果为阴性。

### 3.5 30 d 喂养实验

#### 3.5.1 霍山石斛口服液对实验大鼠体重的影响

各剂量组雌性和雄性实验大鼠的体重增长情况良好, 各剂量组大鼠体重与阴性对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ )(见表 5)。

#### 3.5.2 对实验大鼠进食量、食物利用率的影响

在实验第 2 周, 雌性高剂量组大鼠食物利用率明显高

于阴性对照组( $P<0.05$ ), 其余各剂量组雌性和雄性实验大鼠的进食量及食物利用率与阴性对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ )(见表 6, 表 7)。

#### 3.5.3 对实验大鼠血象的影响

雌性和雄性各剂量组实验大鼠的血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数及分类与阴性对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ )(见表 8)。

#### 3.5.4 对实验大鼠生化的影响

雌性和雄性各剂量组实验大鼠生化各指标与阴性对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ ), 霍山石斛口服液对实验大鼠血生化未见不良影响(见表 9, 表 10)。

#### 3.5.5 对实验大鼠脏器重及其脏体比的影响

各剂量组雌性和雄性实验大鼠的脏器重及其脏体比与阴性对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ ), 霍山石斛口服液对实验大鼠的脏器重及其脏体比无明显影响(见表 11, 表 12)。

表 3 霍山石斛口服液对小鼠微核率和 PCE/NCE 的影响( $n=5$ )

Table 3 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on micronucleus rate and PCE/NCE of bone marrow cells in mice ( $n=5$ )

性别	组别	剂量/(mL/kg)	鼠数	嗜多染红细胞数	微核细胞数	微核率/%	PCE/NCE
雌	阴性对照	0.0	5	5000	10	2.0±1.0	1.01±0.04
		5.0	5	5000	10	2.0±0.7	1.00±0.05
	样品	10.0	5	5000	12	2.4±0.5	1.00±0.05
		20.0	5	5000	14	2.8±0.8	0.99±0.06
	环磷酰胺	40 mg/kg	5	5000	104	20.8±1.9*	0.98±0.04
雄	阴性对照	0.0	5	5000	9	1.8±0.4	1.00±0.04
		5.0	5	5000	11	2.2±0.8	1.02±0.05
	样品	10.0	5	5000	10	2.0±0.7	0.98±0.04
		20.0	5	5000	12	2.4±0.5	1.00±0.05
	环磷酰胺	40 mg/kg	5	5000	106	21.2±2.4*	0.98±0.03

注: 与阴性对照组比较, \* $P<0.01$ 。

表 4 霍山石斛口服液对小鼠畸形发生率的影响( $n=5$ )

Table 4 Effect of *Dendrobium huoshanense* oral solution sperm deformity rate in mice ( $n=5$ )

组别	剂量/(mL/kg)	鼠数	观察精子数	畸形精子数						小计	畸形率	
				无定形	无钩	折叠	胖头	香蕉	双头			双尾
阴性对照	0.0	5	5000	66	16	/	2	1	1	/	86	1.72±0.33
	5.0	5	5000	62	19	/	1	1	2	/	85	1.70±0.29
样品	10.0	5	5000	72	17	/	/	2	/	1	92	1.84±0.32
	20.0	5	5000	70	14	/	1	2	1	1	89	1.78±0.34
MMC	1.5 ng/kg	5	5000	238	40	/	16	9	1	/	304	6.08±0.37*

注: 与阴性对照组比较, \* $P<0.01$ ; MMC: 丝裂霉素 C。

表5 霍山石斛口服液对大鼠体重的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 5 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on weight gain in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数 /n	始重	第1周	第2周	第3周	第4周	总增重
雌性	阴性对照组	10	77.8±6.7	119.0±8.0	148.9±9.1	170.2±15.0	191.4±18.3	113.7±18.2
	低剂量组	10	77.7±7.9	118.3±8.8	150.5±6.0	170.9±6.7	191.3±7.5	113.6±5.9
	中剂量组	10	77.8±8.0	120.6±6.1	150.4±5.1	173.3±8.1	193.0±7.3	115.3±10.0
	高剂量组	10	77.9±7.5	120.2±11.4	156.1±10.7	178.2±9.5	197.3±11.3	119.4±8.0
雄性	阴性对照组	10	79.3±4.8	131.8±6.9	178.5±9.9	230.0±14.3	283.9±19.6	204.6±19.5
	低剂量组	10	79.1±4.6	134.8±6.9	176.0±14.0	231.1±14.4	283.5±17.1	204.4±15.5
	中剂量组	10	79.6±4.4	134.2±8.8	182.1±11.0	234.2±16.6	287.3±19.8	207.8±17.3
	高剂量组	10	79.2±4.1	133.2±7.5	176.7±12.1	227.0±16.0	277.8±22.8	198.6±20.3

表6 霍山石斛口服液对大鼠进食量的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 6 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on food intake in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	第1周	第2周	第3周	第4周	总进食量
雌性	阴性对照组	10	97.0±8.2	122.5±8.3	129.4±19.2	138.8±21.7	487.7±45.4
	低剂量组	10	95.8±12.3	126.9±14.1	128.5±14.1	136.9±15.2	488.1±21.9
	中剂量组	10	99.0±11.5	122.4±15.4	132.0±10.4	137.1±18.9	490.5±23.9
	高剂量组	10	98.6±10.6	130.3±15.4	132.6±21.0	135.7±15.8	497.2±18.7
雄性	阴性对照组	10	108.6±8.2	138.1±15.2	171.5±16.4	205.7±18.5	623.9±29.5
	低剂量组	10	111.4±8.5	131.6±13.8	179.1±14.3	203.7±16.1	625.8±26.8
	中剂量组	10	110.7±13.1	139.8±6.7	172.4±17.1	203.3±13.1	626.2±28.6
	高剂量组	10	110.5±9.8	134.4±14.3	170.0±12.3	199.6±14.5	614.5±35.8

表7 霍山石斛口服液对大鼠食物利用率的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 7 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on food utilization in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	第1周	第2周	第3周	第4周	总利用率
雌性	阴性对照组	10	42.4±3.0	24.3±2.8	16.1±4.2	15.2±2.2	23.2±2.0
	低剂量组	10	42.0±3.4	25.3±3.1	15.9±1.6	14.9±2.7	23.3±1.1
	中剂量组	10	43.2±2.5	24.3±2.6	17.3±2.4	15.0±2.7	23.6±1.4
	高剂量组	10	42.9±2.6	27.6±2.3	16.9±2.5	14.2±2.3	24.0±1.8
雄性	阴性对照组	10	48.4±3.4	33.9±3.7	30.1±3.1	26.3±2.8	32.8±2.4
	低剂量组	10	50.2±3.2	31.1±4.3	30.8±2.8	25.8±2.5	32.7±1.9
	中剂量组	10	49.4±2.0	34.3±3.1	30.3±3.1	26.2±2.4	33.2±1.8
	高剂量组	10	49.0±3.9	32.1±3.6	29.6±2.4	25.3±2.1	32.3±1.9

注: 与阴性对照组比较, \*  $P < 0.05$ 。

表 8 霍山石斛口服液对大鼠血象的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 8 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on hematological parameters in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	红细胞 $10^{12}/L$	血红蛋白/(g/L)	白细胞 $10^9/L$	白细胞分类		
						中性	淋巴	其它
雌性	阴性对照组	10	7.06±0.29	131.5±10.6	4.37±0.77	18.7±6.9	72.4±8.8	8.9±4.4
	低剂量组	10	7.14±0.37	133.1±11.8	4.82±1.39	17.6±5.3	72.5±8.0	9.9±3.6
	中剂量组	10	7.20±0.14	136.7±7.4	4.61±0.56	14.2±5.3	74.8±8.8	11.0±6.2
	高剂量组	10	7.16±0.54	137.5±10.9	4.50±0.55	15.1±4.8	76.6±6.4	8.3±3.5
雄性	阴性对照组	10	6.80±0.27	131.4±10.0	4.94±1.04	12.4±2.4	82.6±5.4	5.0±3.3
	低剂量组	10	6.77±0.27	126.2±5.2	5.09±0.67	13.1±2.5	81.5±5.0	5.4±3.7
	中剂量组	10	6.91±0.40	130.8±8.3	5.33±1.01	17.7±8.3	75.9±12.5	6.4±1.9
	高剂量组	10	6.65±0.29	130.1±7.8	4.84±0.90	12.4±2.8	80.0±3.8	7.6±3.0

表 9 霍山石斛桑口服液对大鼠血生化的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 9 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on blood biochemistry in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	Chol/mmol/L	ALT/IU/L	AST/IU/L	TP/g/L	ALB/g/L
雌性	阴性对照组	10	1.39±0.56	34.6±8.8	101.9±30.6	55.5±6.9	25.9±1.6
	低剂量组	10	1.45±0.28	37.2±6.4	122.5±17.9	55.0±3.4	26.8±4.0
	中剂量组	10	1.40±0.20	29.0±4.2	117.8±20.2	55.8±1.2	27.0±1.7
	高剂量组	10	1.37±0.37	32.2±10.5	101.6±32.7	53.1±4.8	25.1±3.6
雄性	阴性对照组	10	1.13±0.23	58.1±23.0	126.4±31.3	53.2±1.3	27.0±1.1
	低剂量组	10	1.20±0.29	54.4±13.3	132.2±30.2	53.9±2.4	27.1±0.9
	中剂量组	10	1.22±0.34	56.7±31.6	147.0±51.3	53.1±1.8	27.0±1.6
	高剂量组	10	1.21±0.20	57.6±20.1	128.0±23.3	53.3±1.7	27.2±0.7

表 10 霍山石斛口服液对大鼠血生化的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 10 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on blood biochemistry in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	Glu/mmol/L	Urea/mmol/L	CR/ $\mu$ mol/L	TG/ $\mu$ mol/L
雌性	阴性对照组	10	6.12±1.49	8.92±2.13	42.1±4.5	0.48±0.17
	低剂量组	10	6.19±0.89	7.29±0.81	37.8±10.1	0.50±0.30
	中剂量组	10	6.19±1.12	9.05±1.88	41.6±4.2	0.45±0.12
	高剂量组	10	6.02±0.78	6.34±2.41	45.0±7.6	0.49±0.07
雄性	阴性对照组	10	6.84±0.65	5.44±0.69	35.2±4.8	0.46±0.19
	低剂量组	10	7.10±0.74	5.55±0.43	34.3±5.8	0.47±0.19
	中剂量组	10	7.27±0.64	5.39±1.31	38.7±3.8	0.46±0.16
	高剂量组	10	7.30±0.47	5.56±0.73	39.7±4.5	0.48±0.15

表 11 霍山石斛口服液对大鼠脏器比的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 11 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on organ/body weight ratio in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	空腹体重/g	肝脏/g	肝体比/%	肾脏/g	肾体比/%
雌性	阴性对照组	10	175.7±16.5	6.00±0.74	3.41±0.27	1.63±0.20	0.93±0.07
	低剂量组	10	175.9±6.5	5.92±0.38	3.36±0.16	1.64±0.10	0.93±0.03
	中剂量组	10	176.6±7.2	5.92±0.45	3.40±0.25	1.66±0.13	0.95±0.08
	高剂量组	10	182.1±10.8	6.28±0.39	3.46±0.26	1.75±0.22	0.96±0.11
雄性	阴性对照组	10	252.3±16.3	8.72±0.87	3.45±0.22	2.48±0.20	0.98±0.05
	低剂量组	10	250.0±17.1	8.34±0.50	3.34±0.14	2.40±0.18	0.96±0.07
	中剂量组	10	252.4±18.1	8.98±0.55	3.56±0.14	2.55±0.29	1.01±0.08
	高剂量组	10	244.7±18.3	8.22±0.77	3.37±0.31	2.36±0.27	0.97±0.12

表 12 霍山石斛口服液对大鼠脏器比的影响( $\bar{x} \pm S, n=10$ )Table 12 Effects of *Dendrobium huoshanense* oral solution on organ/body weight ratio in rats ( $\bar{x} \pm S, n=10$ )

性别	组别	鼠数/n	肝脏/g	肝脏比/g	睾丸/g	睾丸比/g
雌性	阴性对照组	10	0.44±0.05	0.25±0.02	/	/
	低剂量组	10	0.47±0.06	0.27±0.03	/	/
	中剂量组	10	0.42±0.05	0.24±0.03	/	/
	高剂量组	10	0.48±0.08	0.27±0.04	/	/
雄性	阴性对照组	10	0.71±0.10	0.28±0.22	2.43±0.13	0.97±0.09
	低剂量组	10	0.74±0.11	0.30±0.05	2.41±0.16	0.97±0.06
	中剂量组	10	0.77±0.11	0.30±0.04	2.44±0.14	0.97±0.06
	高剂量组	10	0.70±0.12	0.29±0.05	2.39±0.09	0.98±0.08

### 3.5.6 对实验大鼠大体解剖结果影响

共检查对照组和各剂量组 80 只大鼠,雌雄各半,剖检后肉眼观察,心、肺、肝、脾、肾、胃、肠、睾丸(卵巢)等主要脏器的色泽、大小、形态结构等均未见明显异常。

### 3.5.7 对实验大鼠组织学检查结果影响

镜下检查高剂量组及对照组大鼠各 20 只,雌雄各半。结果显示:①肝脏被膜完整,肝小叶结构清楚。其中对照组有 3 只雌鼠、2 只雄鼠,高剂量组有 2 只雄鼠、3 只雌鼠个别肝血窦、肝中央静脉轻度充血;对照组有 1 只雌鼠局部汇管区有一点状白细胞浸润。②肾脏被膜完整,肾小球、肾小管结构正常。其中对照组有 5 只雌鼠、4 只雄鼠,高剂量组有 4 只雌鼠、1 只雄鼠个别肾间质毛细血管轻度充血。③胃肠各层结构清楚,粘膜上层完整,粘膜下层未见异常。④脾脏:被膜完整,脾小梁结构正常,红、白髓比例正常,未见异常。⑤卵巢:上皮与白膜正常,各级卵泡发育良好,间质未见异常。⑥睾丸:曲细精管内各级生精细胞发育良好,间质未见异常。

## 4 结 论

急性毒性试验结果表明,霍山石斛口服液小鼠急性经口 MTD 大于 40 mL/kg BW,属于无毒级,霍山石斛口服

液遗传毒性试验,Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验结果均为阴性,表明霍山石斛口服液无致基因突变作用,无致染色体畸变及生殖细胞遗传毒性;30 d 喂养试验,当剂量达到 10.0 mL/kg BW 时,未见试验动物出现中毒体征,未见试验动物出现中毒体征,结果表明,霍山石斛口服液对动物的体重、进食量等生长发育情况、造血功能、肝肾功能均无损害作用。综上,霍山石斛口服液食用安全,在试验剂量范围内无毒副作用,无致畸致突变作用,说明该产品相对安全。同时也为后期开发降血糖类的霍山石斛产品提供依据。

## 参考文献

- [1] 顺庆生,魏刚,何详林,等.中华枫斗[M].昆明:云南科技出版社,2016.  
Shun QS, Wei G, He XL, et al. China dendrobium [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Publishers, 2016.
- [2] 中国植物志编写委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1999.  
Chinese Flora Writing Committee. Chinese flora [M]. Beijing: Science Publishers, 1999.
- [3] 崔胜文,罗双群,周婧琪,等.霍山石斛多糖研究进展[J].食品研究与开发,2018,39(8):207-213.  
Cui SW, Luo SQ, Zhou JQ, et al. Research advances on *Dendrobium huoshanense* polysaccharide [J]. Food Res Dev, 2018, 39(8): 207-213.

- [4] 罗宇琴, 肖苏萍, 赵润怀, 等. 霍山石斛与铁皮石斛对比研究进展[J]. 中国现代中药, 2016, 18(8): 1067–1070.  
Luo YQ, Xiao SP, Zhao RH, *et al.* Research progress in comparative study of *Dendrobium huoshanense* and *D. officinale* [J]. Chin Med Chin Mod, 2016, 18(8): 1067–1070.
- [5] 张明发, 沈雅琴. 桑白皮的药理研究进展[J]. 上海医药, 2006, 27(4): 164–167.  
Zhang MF, Shen YQ. Research advances on cortex mori pharmacology [J]. Shanghai Med, 2006, 27(4): 164–167.
- [6] 汪宁, 朱荃, 周义维, 等. 桑枝、桑白皮体外降糖作用研究[J]. 中药药理与临床, 2005, (6): 35–36.  
Wang N, Zhu Q, Zhou YW, *et al.* Study on hypoglycemic effects of extracts of ramulus mori and cortex mori *in vitro* [J]. Chin Med Pharm Clin, 2005, (6): 35–36.
- [7] 詹丽超, 杨秀鸿, 吴军, 等. 玉竹桑白皮片对高血糖小鼠降糖作用的观察[J]. 慢性病学杂志, 2018, 19(9): 13–16.  
Jan LC, Yang XH, Wu J, *et al.* Observation on the auxiliary hypoglycemic function of the mulberry cortex of Yuzhu in hyperglycaemia mouse [J]. J Chronic Dis, 2018, 19(9): 13–16.
- [8] 刘洋洋, 安莹莹, 秦文娟, 等. 黄精多糖药理作用研究进展[J]. 泰山医学院学报, 2014, (9): 967–970.  
Liu YY, An YY, Qin WJ, *et al.* Research advances on pharmacological effect of *Polygonatum kingianum* [J]. J Taishan Med Coll, 2014, (9): 967–970.
- [9] 陈建国, 王茵, 来伟旗, 等. 金钗石斛的安全性毒理学评价[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(1): 42–44.  
Chen JG, Wang Y, Lai WQ, *et al.* Safety toxicological evaluation of *Dendrobium nobile* [J]. Chin J Health Lab Technol, 2002, 12(1): 42–44.
- [10] 冯旭, 赵龙, 陈虹, 等. 铁皮石斛原球茎毒理学安全性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, (3): 355–358.  
Feng X, Zhao L, Chen H, *et al.* Research on toxicological security of *dendrobium candidum* protocorms [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, (3): 355–358.
- [11] 傅剑云, 夏勇, 徐彩菊, 等. 铁皮石斛提取液的毒性研究及安全性评价[J]. 浙江预防医学, 1998, (4): 250–251.  
Fu JY, Xia Y, Xu CJ, *et al.* Toxicity study and safety evaluation of *Dendrobium candidum* extract [J]. Zhejiang Prev Med, 1998, (4): 250–251.
- [12] 李滨, 陈锋, 王新生, 等. 霍山石斛安全性评价研究[J]. 食品研究与开发, 2014, (12): 85–91.  
Li B, Chen F, Wang XS, *et al.* Study on toxicological security of *Dendrobium huoshanense* [J]. Food Res Dev, 2014, (12): 85–91.
- [13] 尚贞子, 钱铭雪, 张淇军, 等. 霍山石斛茎的食用安全性评价[J]. 食品工业科技, 2019, (5): 213–218, 258.  
Shang ZZ, Qian MX, Zhang QJ, *et al.* Food safety evaluation of *Dendrobium huoshanense* stems [J]. Food Ind Technol, 2019, (5): 213–218, 258.
- [14] 冯克玉, 刘国雄, 张毅. 桑白皮醇提液的降压作用及毒性作用的初步研究[J]. 新医药学杂志, 1974(3): 38, 44–45.  
Feng KY, Liu GX, Zhang Y. Study on antihypertensive effect and toxic effect of cortex mori extract [J]. J New Med, 1974, (3): 38, 44–45.
- [15] 冯敬群, 侯建平, 吴建华, 等. 黄精不同炮制品的毒性有及浸出物对比研究[J]. 陕西中医学院学报, 1991, (10): 35–36.  
Feng JQ, Hou JP, Wu JH, *et al.* Toxicity and extract comparison of different processed products of *Polygonatum* [J]. J Shaanxi Coll Tradit Chin Med, 1991, (10): 35–36.
- [16] 李志, 王升贵, 唐川. 霍山石斛姜黄葛根胶囊安全性研究[J]. 安徽农业科学, 2018, (2): 140–144, 187.  
Li Z, Wang SG, Tang C. Study on the safety of *Dendrobium huoshanense* curcumin puerarin capsule [J]. J Anhui Agric Sci, 2018, (2): 140–144, 187.
- [17] 陈秀锦, 黄佳宁, 林蔚, 等. 石斛西洋参含片的毒理学安全性研究[J]. 海峡药学, 2018, (4): 38–41.  
Chen XJ, Shang JN, Lin W, *et al.* Study on toxicological safety of shixia american ginseng tablets [J]. Strait Pharm J, 2018, (4): 38–41.
- [18] 滕德义, 吴松云, 经广纬. 复方桑白皮的急性毒性试验结果[J]. 上海实验动物科学, 1998, 226(4): 35–36.  
Teng DY, Wu SY, Jing GW. Acute toxicity test results of compound cortex mori [J]. Shanghai Exp Anim Sci, 1998, 226(4): 35–36.
- [19] 陈兴荣, 王成军, 赖泳. 复方滇黄精提取物的急性毒性和药效学初步实验研究[J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(1): 59–60.  
Chen XR, Wang CJ, Lai Y. Preliminary experimental study on acute toxicity and pharmacodynamics of compound *Polygonatum* extract [J]. Yunnan Trad Chin Med, 2010, 31(1): 59–60.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介

马荣锋, 硕士, 研究方向为植物多糖及应用。

E-mail: marongf@jgsteel.cn

王升贵, 执业药师, 研究方向为植物多糖及应用。

E-mail: wangshenggui@jgsteel.cn