

汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊的动物毒理学 安全性评价研究

宋愿智^{1*}, 李秋菲¹, 牟霄¹, 廖德宏², 王敏², 孙文基³, 刘建书⁴,
甘志杰⁵, 许雪峰⁵, 张庆兰⁶

- (1. 陕西省食品药品检验所, 西安 710065; 2. 陕西神龙药业有限公司, 南郑 723000; 3. 西北大学, 西安 710068;
4. 陕西省疾病预防控制中心, 西安 710054; 5. 汉中市食品药品检验检测中心, 汉中 723000;
6. 汉中市卫生学校, 汉中 723000)

摘要: **目的** 对汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊的服用安全性开展毒理学研究。**方法** 按照国家标准要求和相关规定, 首先进行小鼠急性毒性试验, 采用最大给药量实验法(maximum tolerated dose, MTD), 然后进行遗传性毒性试验, 包括 Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验, 最后进行大鼠 30 d 喂养实验来评价其毒理学安全性, 以 2670.0、2002.5、1335.0 mg/kg·bw 三个剂量, 观察大鼠体重、增重量、进食量、食物利用率、血常规等指标的变化。**结果** 给最大给药量(30000 mg/kg)的样品灌胃后, 未见中毒症状, 无动物死亡; Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验 3 项遗传毒性试验结果均为阴性; 30 d 喂养试验发现, 与对照组相比, 各剂量组大鼠的各项指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 本品在本实验范围内无毒, 无遗传性产品, 可以作为降血脂保健食品用于人体。

关键词: 汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊; 毒理学; 安全性

The toxicological safety evaluation and research of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule

SONG Yuan-Zhi^{1*}, LI Qiu-Fei¹, MOU Xiao¹, LIAO De-Hong², WANG Min², SUN Ji-Wen³,
LIU Jian-Shu⁴, GAN Zhi-Jie⁵, XU Xue-Feng⁵, ZHANG Qing-Lan⁶

(1. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China; 2. Shaanxi Shenlong Pharmaceutical Co., Ltd., Nanzheng 723000, China; 3. Northwest University, Xi'an 710068, China; 4. Shaanxi Center for Disease Control and Prevention, Xi'an 710054, China; 5. Hanzhong City Food and Drug Inspection Testing Center, Hanzhong 723000, China; 6. Hanzhong City Health Occupation Technical School, Hanzhong 723000, China)

ABSTRACT: Objective To study the taking toxicological safety of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule. **Methods** According to the national standard requirements and relevant provisions, at first, acute mouth diameter MTD maximum tolerated dose (MTD) was used to perform polar toxicity test. Then, genetic toxicity test was also carried on, including Ames test, micronucleus test of bone marrow cells in mice and mouse sperm malformation test. Finally, 30 days rat feeding experiment was carried out to evaluate the toxicological safety. The dose were 2670.0, 2002.5, 1335.0 mg/kg·bw respectively. Meanwhile the change of body weight, weight gain, food intake, food utilization, routine serum index were observed. **Results** The

*通讯作者: 宋愿智, 副主任药师, 主要研究方向为食品药品安全检测, E-mail: shipnshi@126.com

*Corresponding author: SONG Yuan-Zhi, Associate Chief Pharmacist, Shaanxi Institute for Food and Drug Control, NO.21, the 5th Road of Keji, Gaoxin District, Xi'an 710065, China. E-mail: shipnshi@126.com

maximum dosage of the sample after gavage, no poisoning symptoms and animal death occurred. The genetic toxicity result of Ames test, mouse bone marrow cells micronucleus test and mouse sperm maformation test were negative. Blood and serum indexes of each dose group had no significant difference compared with the control group after 30 days feeding test ($P>0.05$). **Conclusion** This product is a non-toxic, no genetic toxicity and non-toxic product in the scope of this experiment, and can be used as a kind of new hypolipidemic health food.

KEY WORDS: Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule; toxicology; safety

1 引言

汉莲牌红灵丹胶囊是由红曲、灵芝和丹参三味中药材经合理配方,精制制成的一种新型纯天然降脂产品。三味中药材均属传统用药材料,在我国已使用多年。食用功能红曲(monascus),含有丰富的化学活性物质,具有降血脂、降血压、抗肿瘤、抗疲劳、抗动脉硬化、增强免疫力等药理作用,特别是主要成分Mnacolin-K(酸式洛伐他汀)是一种新型降血脂药物,与单纯洛伐他汀相比综合疗效显著,安全性高,毒副作用较小^[1-5]。灵芝(ganoderma)是一种珍贵药用菌,含有丰富的活性成分,其灵芝多糖(ganoderma lucidum polysaccharides)具有广泛的药理活性,被誉为“生物免疫的调节剂和脏器损伤的修复剂”,具有提高机体免疫力、修复脏器损伤、抑制肿瘤、增强机体耐缺氧能力、消除自由基、抗衰老、抗氧化、抗血栓、抗血凝、抗病毒、降血糖、降血脂等作用^[6-8]。丹参(salvia),其有效成分为丹参酮、丹参素、丹酚酸等,具有扩张血管、抗动脉粥样硬化、保护心肌、抗血栓、改善微循环等多种药理作用^[9-12]。下面将对红灵丹胶囊进行急性毒性、体内外致突变及 30 d 喂养等毒性实验,以期为使用提供安全依据。

2 材料和方法

2.1 样品

由陕西神龙药业有限公司生产的汉莲牌红灵丹胶囊,规格:0.4 g/粒,生产批号:20121101,置阴凉干燥处保存。人口服推荐用量为每人(成人)每日 2 次,每次 2 粒,成人体重按 60 kg 计算,折合剂量为 26.7mg/kg·bw。取胶囊内容物进行试验。

2.2 实验动物及饲养

SPF 级健康昆明种小鼠,由第四军医大学实验

动物中心繁殖,实验动物生产许可证号:SCXK(陕)2010-0001,实验动物质量合格证号:0001248;SPE 级 SD 种大鼠,由第四军医大学实验动物中心繁殖,实验动物生产许可证号:SCXK(陕)2010-0002,实验动物质量合格证号:0001249,实验动物使用许可证号:SYXK(陕)2008-0003。实验动物室温度:22~25℃,相对湿度:55%~70%。

2.3 仪器与试剂

2.3.1 主要仪器

超净生物工作台(苏州苏云净化设备有限公司);恒温孵化箱(乐陵黎明孵化设备有限公司);U-400 全自动生化分析仪(日本 OLYMPUS 公司);全自动血液分析仪(长春光机医疗仪器有限公司);OLYMPUS 生物显微镜(日本 OLYMPUS 公司)。

2.3.2 主要试剂

2.4.7-TNFone、叠氮钠(NaN₃)、2-AF 和 1.8-二羟基蒽醌(美国 Sigma 公司);丝裂霉素 C(mitomycin, MMC)(江苏恒瑞医药有限公司);环磷酰胺(cyclophosphamide, CP)(上海华联制药有限公司)。自制大鼠肝 S9 由多氯联苯诱导,经鉴定合格后保存于-80℃。

2.4 急性毒性试验

采用最大给药量试验法,选体重 18~22 g 的昆明种小鼠 20 只,雌雄各半。试验前动物禁食 16 h,不限饮水。称取 20.0 g 样品,加纯水至 40 mL,混匀、配成 500 mg/mL 浓度溶液,然后给动物灌胃 3 次(每次间隔 4 h),每次灌胃量为 0.4 mL/20 g·bw,合计剂量为 30000 mg/kg·bw。灌胃后观察、记录动物的中毒表现。每周称重 1 次,观察两周时间,试验结束解剖动物进行大体观察。按毒性分级标准评价受试物的急性毒性。

2.5 遗传毒性试验

2.5.1 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 TA97a、TA98、TA100、TA102 四种菌株进行试验。用纯水将样品分别配成 50、10、2、0.4 和 0.08 mg/mL 5 个浓度作为受试溶液,经高压灭菌(0.103 Mpa、20 min)处理后供试验用。以多氯联苯诱导的大鼠肝微粒体酶(S₉)作为体外代谢活化系统。采用平板渗入法,在保温的顶层培养基中依次加入 0.1 mL 试验菌株增菌液、0.1 mL 受试物溶液和 0.5 mol/L IS-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。5 个试验剂量分别为 5000、1000、200、40 和 8 $\mu\text{g}\cdot\text{皿}^{-1}$,同时设自发回变对照、溶剂对照和阳性突变剂对照。自发回变对照除不加样品外,其余条件与样品组相同。溶剂对照用灭菌纯水替代样品,其余条件与样品组相同。每个剂量组的各种菌株均做 3 个平行皿。在 37 °C 下培养 48 h,计数每皿的菌落数。整套试验在相同条件下重复做两次。如果受试物的回变菌落数增加超过自发回变菌落数的 2 倍以上,并具有剂量-反应关系者,即为诱导试验阳性。

2.5.2 小鼠骨髓细胞微核试验

采用间隔 2 h 两次经口灌胃法进行试验。选体重为 25~30 g 的昆明种小鼠 50 只,随机分成 5 组,每组 10 只,雌雄各半。实验组 3 个剂量分别设 10000、5000 和 2500 mg/kg·bw,以纯水为阴性对照,40 mg/kg·bw 剂量的环磷酰胺(cp)作为阳性对照。分别称取 20.0、10.0 和 5.0 g 样品,各加纯水至 40 mL,混匀、配成 500、250 和 125 mg/mL 浓度溶液,然后按 0.4 mg/20g·bw 的体积给动物灌胃,阴性对照组灌给等体积的纯水,阳性对照组灌给等体积的 2 mg/mL 环磷酰胺溶液。第二次给样后 6 h 颈椎脱臼处死动物,取胸骨骨髓用小牛血清稀释涂片,甲醇固定, Giemsa 染色。在光学显微镜下,每只动物计数 1000 个嗜多染红细胞(PCE),微核率以含微核的 PCE 千分率计,同时计数 200 个嗜多染红细胞,计算嗜多染红细胞与成熟红细胞的比值(PCE/NCE)。采用泊松分布均数比较法统计处理。如试验组的微核率比阴性对照组增高,并有明显的剂量-反应关系和统计学意义,即为阳性结果。

2.5.3 小鼠精子畸形试验

选体重为 25~35 g 的昆明种雄性小鼠 50 只,随机分成 5 组,每组 10 只。试验组 3 个剂量分别设 10000、5000 和 2500 mg/kg·bw,以纯水为阴性对照,

40 mg/kg·bw 剂量的环磷酰胺(cp)作为阳性对照。分别称取 20.0、10.0 和 5.0 g 样品,各加纯水至 40 mL,混匀、配成 500、250 和 125 mg/mL 浓度溶液,然后按 0.4 mg/20 g·bw 的体积给动物灌胃,阴性对照组灌给等体积的纯水,阳性对照组灌给等体积的 2 mg/mL 环磷酰胺溶液。每天灌胃一次,连续 5 d。末次给样后第 30 d 处死动物,取副辜的精子涂片,甲醇固定,伊红染色。在光学显微镜下,每只动物计数完整精子 1000 个,计算精子畸形率,采用 χ^2 检验统计处理。如试验组的精子畸形率比阴性对照组增高,并有明显的剂量-反应关系和统计学意义,即为阳性结果。

2.6 大鼠 30 d 喂养试验

选 SD 种大鼠 80 只,雌雄各半,雄鼠体重(78.3±6.5) g,雌鼠体重(74.5±6.5) g。将动物随机分成 4 组,即阴性对照组和 3 个试验组,每组 20 只,雌雄各半。3 个试验组剂量分别设为 1335.0、2002.5 和 2670.0 mg/kg·bw,分别相当于人体推荐剂量的 50、70 和 100 倍。分别称取 53.4、80.1 和 106.8 g 样品,各加纯水至 400 mL,混匀、配成 133.5、200.25 和 267.0 mg/mL 浓度溶液,按 1.0 mL/100 g GW 的体积给相应剂量组动物灌胃,阴性对照组灌给相同体积的纯水,每天灌胃一次,连续灌胃 30 d。

实验期间所有动物给予普通饲料,单笼饲养,自由摄食饮水。每天观察动物的活动和生长情况,每周加食 2 次,记录给食量和剩食量,每周称一次体重,计算每周进食量和食物利用率。实验结束动物禁食过夜,次日早上称动物空腹体重,然后处死大鼠,采 2 份血样,一份血抗凝用血球计数仪检测血红蛋白(Hb)、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)及其分类、血小板(PLT)等;另一份血不抗凝分离血清,用试剂盒和全自动生化分析仪检测血清谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、血葡萄糖(Glu)、总蛋白(TP)、血清白蛋白(Alb)等项目。采血后解剖动物,进行大体观察,取肝脏、肾脏、脾脏和睾丸等脏器进行称重,计算脏/体比值,取肝脏、肾脏、脾脏、胃、十二指肠、睾丸和卵巢等脏器进行病理组织学检查。在对各剂量组动物作大体检查未发现明显病变和生化指标改变时,只进行高剂量组和对照组动物的主要脏器的组织病理学检查,如发现病变则对中、低剂量组相应器官及组织进行检查。

2.7 统计学方法

采用 SPSS 统计软件进行单因素方差分析。在统计分析时, 先对数据进行方差齐性检验, 若方差齐, 采用单因素方差分析进行总体比较, 发现差异再用 Dunnett 检验进行多个剂量组与对照组均数间的两两比较。

3 结果与分析

3.1 急性经口毒性试验结果

以最大给药量(计量为 30000 mg/kg·bw)的样品给予小鼠灌胃后, 未见动物有中毒症状, 无动物死亡, 试验结束解剖动物, 大体观察未见异常, 急性经口毒性属无毒级。结果见表 1。

3.2 遗传毒性试验

3.2.1 Ames 试验

从表 2、表 3 可见, 对 TA97a、TA98、TA100、TA102 四种试验菌株, 无论是否加入 S-9, 样品各剂量组的

回变菌落数均未超过自发回落均数的两倍, 亦无剂量-反应关系, 表明该受试物诱变试验结果为阴性。

3.2.2 小鼠骨髓细胞微核试验

从表 4 可见, 样品各剂量组小鼠的骨髓细胞微核率与阴性对照组比较, 差异均无显著性($P>0.05$), 而环磷酰胺(cp)与阴性对照组比较差异有极显著性($P<0.01$)。未见该样品对小鼠的骨髓细胞有损伤作用。

3.2.3 小鼠精子畸形试验

从表 5 可见, 样品对小鼠精子畸形发生率未产生明显改变, 样品各剂量组的精子畸形率与阴性对照组比较, 差异均无显著性($P>0.05$), 而环磷酰胺(cp)与阴性对照组比较差异有极显著性($P<0.01$)。未见该产品对小鼠精子产生畸变作用。

3.3 大鼠 30 d 喂养试验

以 2670.0、2002.5 和 1335.0 mg/kg·bw(分别相当于人体推荐用量 100、75 和 50 倍)3 个剂量的样品连续给大鼠灌胃 30 d, 实验期间动物的生长发育良好, 各剂量组的动物体重、增重量、进食量、食物利用率、

表 1 汉莲牌红灵丹胶囊对小鼠的急性毒性试验结果

Table 1 Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule on mice of acute toxicity test results

性别	动物数 (只)	途径 剂量		初始体重 (g)	第 7 d 体重 (g)	第 14 d 体重 (g)	出现中毒症状 动物数(只)	死亡数 (只)
		(mg/kg·bw)						
雄	10	经口	30000	19.7±1.4	25.9±1.5	31.4±2.0	0	0
雌	10	经口	30000	19.4±1.5	24.6±2.1	29.5±2.3	0	0

表 2 汉莲牌红灵丹胶囊 Ames 试验结果(第一次)

Table 2 The experimental results of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule (The first time)

剂量组 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97a		TA98		TA100		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
5000	126.7±14.3	138.3±17.1	36.0±4.6	39.3±2.1	144.7±11.1	160.7±18.0	271.7±26.1	272.0±24.3
1000	122.7±18.2	131.7±12.4	38.7±3.8	44.0±3.6	160.3±10.8	156.7±18.2	277.7±15.3	268.7±22.0
200	136.0±19.2	143.0±11.3	40.3±5.1	42.3±2.5	153.0±19.5	167.3±16.7	285.3±15.0	279.0±16.5
40	132.0±11.4	123.0±18.3	38.7±4.6	41.3±3.8	164.3±12.3	163.3±17.2	276.7±20.6	281.0±14.8
8	130.0±16.7	134.3±12.2	40.7±5.1	38.3±3.5	163.7±14.6	164.3±15.6	270.3±23.7	277.3±18.9
自发回变	129.3±19.6	129.7±20.4	40.3±3.1	41.0±5.3	157.7±10.2	162.3±19.0	275.3±18.2	281.0±16.5
溶剂对照	121.7±15.6	128.7±12.4	39.0±5.6	43.7±4.0	168.3±15.3	161.7±23.9	266.3±16.3	273.0±17.1
阳性对照	2566.7±251.7	1666.7±208.2	2900.0±264.6	5833.3±208.2	2966.7±152.8	2866.7±115.5	886.7±37.9	856.7±25.2

注: 1、以上结果(菌落数)均为 3 个平皿的均值±标准差。2、阳性对照: TA97a+S9、TA98a+S9、TA100+S9 采用 2-氨基苄(计量为 10 $\mu\text{g}/\text{皿}$); TA98-S9 采用柔毛霉素(计量为 6 $\mu\text{g}/\text{皿}$); TA97a-S9、TA102-S9 采用敌克松(计量为 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$); TA100-S9 采用叠氮钠(计量为 1.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$); TA102+S9 采用 1,8-二羟基蒽醌(计量为 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$)。

表 3 汉莲牌红灵丹胶囊 Ames 试验结果(第二次)

Table 3 The experimental results of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule (The second time)

剂量组 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97a		TA98		TA100		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
	126.0 \pm 16.5	140.0 \pm 12.8	36.0 \pm 5.6	35.0 \pm 3.0	165.3 \pm 11.4	154.0 \pm 12.1	267.0 \pm 19.5	277.0 \pm 14.4
1000	146.0 \pm 18.3	140.0 \pm 18.0	40.7 \pm 3.5	41.7 \pm 4.7	168.0 \pm 16.5	160.0 \pm 16.5	279.3 \pm 26.3	273.7 \pm 17.4
200	138.7 \pm 16.6	131.7 \pm 15.3	36.7 \pm 7.2	40.0 \pm 6.0	170.3 \pm 16.6	158.3 \pm 18.2	265.7 \pm 18.5	264.7 \pm 15.5
40	129.3 \pm 18.5	128.7 \pm 18.6	35.0 \pm 4.4	39.3 \pm 4.0	157.3 \pm 14.0	161.7 \pm 20.5	264.0 \pm 14.0	276.3 \pm 19.6
8	135.0 \pm 11.5	135.3 \pm 13.2	41.7 \pm 4.5	38.0 \pm 2.0	156.3 \pm 18.2	164.0 \pm 19.5	265.0 \pm 20.9	260.3 \pm 25.0
自发回变	133.3 \pm 15.3	138.0 \pm 10.5	40.0 \pm 5.0	42.3 \pm 5.7	161.7 \pm 19.4	155.0 \pm 17.5	264.0 \pm 16.5	277.0 \pm 13.8
溶剂对照	135.3 \pm 11.9	131.0 \pm 13.1	39.0 \pm 4.0	37.3 \pm 6.1	164.3 \pm 13.1	164.0 \pm 15.5	273.0 \pm 18.3	267.0 \pm 17.1
阳性对照	2633.3 \pm 208.2	1866.7 \pm 152.8	2766.7 \pm 251.7	5800.0 \pm 264.6	2766.7 \pm 208.2	3033.3 \pm 305.5	893.3 \pm 41.6	850.0 \pm 26.5

注: 以上结果(菌落数)均为 3 个平皿的均值 \pm 标准差。

表 4 汉莲牌红灵丹胶囊对小鼠的骨髓细胞微核发生率的影响

Table 4 Effects of the incidence of bone marrow cells micronucleus in mice of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule

性别	剂量组/ ($\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{bw}$)	动物数/ (只)	受检 PCE 数 /(个)	含微核 PCE 数/ (个)	微核率/ (%)	受检 PCE 数/ (个)	NCE 数 /(个)	PCE/NCE
雄	10000	5	5x1000	6	1.2 \pm 0.4	5x200	935	1.078 \pm 0.109
	5000	5	5x1000	7	1.4 \pm 0.5	5x200	932	1.076 \pm 0.070
	2500	5	5x1000	5	1.0 \pm 0.7	5x200	961	1.050 \pm 0.113
	0	5	5x1000	5	1.0 \pm 0.7	5x200	943	1.066 \pm 0.084
	40(cp)	5	5x1000	122	24.4 \pm 4.1**	5x200	1035	0.978 \pm 0.123
雌	10000	5	5x1000	5	1.0 \pm 0.7	5x200	935	1.078 \pm 0.109
	5000	5	5x1000	5	1.0 \pm 1.0	5x200	932	1.076 \pm 0.070
	2500	5	5x1000	4	0.8 \pm 0.4	5x200	961	1.050 \pm 0.113
	0	5	5x1000	6	1.2 \pm 0.4	5x200	943	1.066 \pm 0.084
	40(cp)	5	5x1000	123	24.6 \pm 3.0**	5x200	1025	0.992 \pm 0.147

注: **与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

表 5 汉莲牌红灵丹胶囊对小鼠的精子畸形发生率的影响

Table 5 The influence of sperm deformity rate in mice of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule

剂量组/ ($\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{bw}$)	动物数/ (只)	受检 精子数 /(个)	精子 畸形率 /(%)	各类精子畸形的构成比(%)													
				无定形		香蕉形		无钩		双尾		双头		胖头		尾折叠	
				数量	比值	数量	比值	数量	比值	数量	比值	数量	比值	数量	比值	数量	比值
10000	10	10000	1.28 \pm 0.32	101	78.9	13	10.2	13	10.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.8
5000	10	10000	1.44 \pm 0.27	109	75.7	18	12.5	14	9.7	0	0.0	0	0.0	1	0.7	2	1.4
2500	10	10000	1.32 \pm 0.26	101	76.5	15	11.4	13	9.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0	3	2.3
0	10	10000	1.26 \pm 0.39	98	77.8	14	11.1	11	8.7	0	0.0	0	0.0	1	0.8	2	1.6
40(cp)	10	10000	4.24 \pm 0.47**	334	78.8	45	10.6	36	8.5	0	0.0	0	0.0	1	0.2	8	1.9

注: **与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

血常规指标、血生化指标、脏器重量及脏器/体重比值与对照组比较, 均无显著性差异($P > 0.05$); 大体解剖观察和组织病理学检查未见与样品有关的异常改变, 提示未见该样品 30 d 喂养对大鼠有毒性作用。结果见表 6~表 14。

4 总结

本品参照《保健食品检验与评价技术规范》及相关文献^[13,14], 对汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊进行了毒理学安全性评价, 结果表明, 本品以最大给药量(剂量为

30000 mg/kg·bw)的样品给予小鼠灌胃后, 未见动物有中毒症状和死亡, 急性经口毒性属无毒级。三项遗传毒性试验(Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验)结果均为阴性。30 d 喂养试验, 以 1335.0、2002.5 和 2670.0 mg/kg·bw 3 个剂量(分别相当于人体推荐用量 50、75 和 100 倍)的样品连续给大鼠灌胃 30 d, 试验期间动物生长发育良好, 各剂量组大鼠的体重、增重量、进食量、食物利用率、血常规指标、血液生化指标、脏器重量及脏器/体重比值等均未受明显影响; 大体解剖观察和组织病理学检查

表 6 汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊对大鼠体重增长和食物利用率的影响($\bar{X} \pm S$)

Table 6 Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule on weight gain and food utilization rate of rats ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组 (mg/kg·bw)	动物数 (只)	体重增重 (g)	进食量 (g)	食物利用率(%)
雄	高剂量	10	65.0±10.5	197.7±23.8	32.7±1.8
	中剂量	10	65.2±3.0	201.9±12.4	32.3±0.8
	低剂量	10	66.0±3.9	212.4±12.8	31.1±0.7
	对照组	10	61.7±6.9	196.0±24.2	31.5±1.2
雌	高剂量	10	35.5±6.7	157.6±25.6	22.5±1.5
	中剂量	10	32.7±6.9	155.0±27.8	21.0±1.3
	低剂量	10	32.9±5.9	158.1±23.9	20.8±1.2
	对照组	10	34.3±2.1	159.3±13.6	21.6±1.3

表 7 汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊 30 d 喂养试验结束大鼠血常规指标检查结果($\bar{X} \pm S$)

Table 7 Rats routine blood test results after 30 d feeding test of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组 (mg/kg·bw)	动物数 (只)	血红蛋白 (g/L)	红细胞 ($10^{12}/L$)	血小板 ($10^9/L$)
雄	高剂量	10	145.2±15.2	7.33±0.77	790.1±266.6
	中剂量	10	147.2±7.6	7.72±0.37	720.6±252.4
	低剂量	10	149.2±9.7	7.49±0.49	819.0±180.9
	对照组	10	148.4±8.5	7.67±0.28	823.4±205.3
雌	高剂量	10	147.6±5.8	7.50±0.48	837.2±277.1
	中剂量	10	151.1±7.6	7.74±0.39	857.0±254.4
	低剂量	10	150.6±10.8	7.67±0.62	890.6±201.7
	对照组	10	151.6±4.5	7.75±0.45	797.0±232.1

表 8 汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊 30 d 喂养试验结束大鼠血常规指标检查结果($\bar{X} \pm S$)

Table 8 Rats routine blood test results after 30 d feeding test of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组	动物数 (只)	白细胞 ($10^9/L$)	白细胞分类(%)				
				淋巴细胞	中性粒细胞	单核细胞	嗜酸细胞	嗜碱细胞
雄	高剂量	10	8.21±1.24	76.3±4.7	17.3±4.0	4.51±1.00	1.56±1.01	0.27±0.21
	中剂量	10	8.79±1.54	75.9±4.4	17.7±3.5	4.96±1.55	1.21±0.88	0.24±0.11
	低剂量	10	8.55±3.34	78.1±2.5	16.2±2.9	4.33±1.41	1.26±0.79	0.17±0.21
	对照组	10	8.20±1.57	75.4±2.2	18.2±2.2	4.64±1.89	1.53±0.43	0.23±0.17
雌	高剂量	10	8.48±2.03	77.0±4.2	16.5±3.1	4.85±1.12	1.54±0.59	0.15±0.18
	中剂量	10	8.35±1.85	77.3±3.1	16.5±2.1	4.38±1.67	1.61±1.15	0.15±0.14
	低剂量	10	8.01±2.23	77.5±5.4	16.2±5.3	4.90±1.19	1.17±0.28	0.27±0.14
	对照组	10	8.55±1.57	77.1±3.3	16.8±2.5	4.38±1.77	1.46±1.17	0.20±0.22

表9 汉莲牌红灵丹胶囊30 d 喂养试验结束大鼠血液生化指标检查结果($\bar{X} \pm S$)
Table 9 Rats blood biochemical indexes test results after 30 d feeding test of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组 (mg/kg·bw)	动物数 (只)	谷草转氨酶 (U/L)	谷丙转氨酶 (U/L)	尿素氮 (mmol/L)	肌酐 (μ mol/L)
雄	高剂量	10	100.98 \pm 12.08	43.00 \pm 8.49	6.50 \pm 0.67	36.96 \pm 3.86
	中剂量	10	93.05 \pm 6.62	38.58 \pm 5.22	6.50 \pm 0.44	36.49 \pm 2.71
	低剂量	10	103.58 \pm 9.48	40.78 \pm 5.61	6.57 \pm 0.74	37.38 \pm 4.25
	对照组	10	94.95 \pm 10.39	40.14 \pm 6.74	6.63 \pm 0.86	38.18 \pm 2.37
雌	高剂量	10	99.37 \pm 7.88	40.23 \pm 8.49	7.23 \pm 0.79	37.23 \pm 3.41
	中剂量	10	95.50 \pm 8.16	39.25 \pm 6.42	6.62 \pm 0.66	36.23 \pm 1.76
	低剂量	10	91.64 \pm 10.25	41.66 \pm 6.26	7.15 \pm 0.84	36.58 \pm 5.58
	对照组	10	101.20 \pm 10.00	41.14 \pm 9.50	6.95 \pm 0.97	38.82 \pm 2.90

表10 汉莲牌红灵丹胶囊30 d 喂养试验结束大鼠血液生化指标检查结果($\bar{X} \pm S$)
Table 10 Rats blood biochemical indexes test results after 30 d feeding test of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组	动物数 (只)	胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	总蛋白 (g/L)	白蛋白 (g/L)	血糖 (mmol/L)
雄	高剂量	10	2.28 \pm 0.41	1.31 \pm 0.25	66.94 \pm 5.49	38.40 \pm 1.90	5.92 \pm 0.63
	中剂量	10	2.07 \pm 0.26	1.31 \pm 0.25	67.80 \pm 4.81	38.43 \pm 1.63	5.89 \pm 0.52
	低剂量	10	2.19 \pm 0.42	1.29 \pm 0.41	70.02 \pm 5.38	39.06 \pm 1.58	5.86 \pm 0.75
	对照组	10	2.36 \pm 0.28	1.07 \pm 0.23	68.09 \pm 4.17	38.35 \pm 1.69	6.45 \pm 0.87
雌	高剂量	10	2.51 \pm 0.40	1.07 \pm 0.39	68.83 \pm 3.96	38.63 \pm 1.75	6.21 \pm 0.60
	中剂量	10	2.79 \pm 0.35	1.05 \pm 0.16	70.53 \pm 3.74	39.43 \pm 1.66	6.55 \pm 0.66
	低剂量	10	2.49 \pm 0.37	1.00 \pm 0.23	68.94 \pm 5.06	38.61 \pm 1.78	6.39 \pm 0.33
	对照组	10	2.72 \pm 0.39	1.28 \pm 0.27	72.10 \pm 3.94	40.08 \pm 1.18	6.68 \pm 0.62

表11 汉莲牌红灵丹胶囊对大鼠脏器重量的影响($\bar{X} \pm S$)
Table 11 Impact on the weight of the viscera of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组	动物数 (只)	空腹体重 (g)	肝脏 (g)	肾脏 (g)	脾脏 (g)	睾丸 (g)
雄	高剂量	10	311.3 \pm 20.7	9.625 \pm 0.990	2.589 \pm 0.350	0.903 \pm 0.190	3.081 \pm 0.199
	中剂量	10	305.1 \pm 15.4	9.242 \pm 0.566	2.502 \pm 0.322	0.828 \pm 0.094	3.151 \pm 0.220
	低剂量	10	308.9 \pm 20.1	9.576 \pm 0.917	2.587 \pm 0.181	0.893 \pm 0.082	3.113 \pm 0.139
	对照组	10	307.0 \pm 18.1	9.328 \pm 0.785	2.560 \pm 0.136	0.878 \pm 0.078	3.078 \pm 0.203
雌	高剂量	10	214.5 \pm 16.1	7.108 \pm 0.680	1.641 \pm 0.176	0.605 \pm 0.106	—
	中剂量	10	207.3 \pm 16.6	6.463 \pm 0.725	1.624 \pm 0.137	0.561 \pm 0.074	—
	低剂量	10	212.4 \pm 11.3	6.597 \pm 0.301	1.651 \pm 0.168	0.614 \pm 0.050	—
	对照组	10	212.3 \pm 9.0	6.923 \pm 0.737	1.649 \pm 0.173	0.596 \pm 0.083	—

表 12 汉莲牌红灵丹胶囊对大鼠脏器/体重比值的影响($\bar{X} \pm S$)Table 12 Impact on the weight of the viscera of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule ($\bar{X} \pm S$)

性别	剂量组	动物数 (只)	肝脏 (%)	肾脏 (%)	脾脏 (%)	睾丸 (%)
雄	高剂量	10	3.091±0.247	0.832±0.106	0.290±0.056	0.993±0.089
	中剂量	10	2.978±0.228	0.807±0.122	0.267±0.032	1.016±0.093
	低剂量	10	3.096±0.153	0.839±0.048	0.289±0.018	1.011±0.072
	对照组	10	3.047±0.308	0.836±0.055	0.287±0.035	1.005±0.080
雌	高剂量	10	3.312±0.164	0.765±0.054	0.281±0.037	—
	中剂量	10	3.120±0.260	0.784±0.038	0.270±0.024	—
	低剂量	10	3.113±0.207	0.776±0.056	0.290±0.033	—
	对照组	10	3.267±0.375	0.778±0.091	0.282±0.045	—

表 13 汉莲牌红灵丹胶囊 30 d 喂养试验大鼠肝脏组织病理学检查结果

Table 13 Rats liver histopathological examination results after 30 d feeding test of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule

病 变	雄鼠出现病变的动物数		雌鼠出现病变的动物数		
	高剂量组	对照组	高剂量组	对照组	
肝细胞	变性	2 / 10	0 / 10	0 / 10	1 / 10
	点状坏死	1 / 10	1 / 10	1 / 10	1 / 10
	炎细胞浸润	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
间质	血管扩张	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
	炎细胞浸润	1 / 10	1 / 10	1 / 10	1 / 10
	纤维化	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
其他	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10	

表 14 汉莲牌红灵丹胶囊 30 d 喂养试验大鼠肾脏组织病理学检查结果

Table 14 Rats renal histopathological examination results after 30 d feeding test of Hanlian brand Monascus Ganoderma Salvia capsule

病 变	雄鼠出现病变的动物数		雌鼠出现病变的动物数		
	高剂量组	对照组	高剂量组	对照组	
肾小球	浊肿	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
	坏死	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
	炎细胞浸润	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
肾小管	变性	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
	坏死	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
	炎细胞浸润	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
间质	血管扩张	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
	炎细胞浸润	1 / 10	1 / 10	2 / 10	1 / 10
	纤维化	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10
其他	0 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 10	

未见与样品有关的异常改变。结果提示, 该样品 30 d 喂养对大鼠各项观察指标未产生毒副作用。说明该产品在本实验范围内无毒, 无遗传毒性。

参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 911, 1180.
Nanjing university of Chinese medicine. Chinese Medicine Dictionary (I) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2001: 911, 1180.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典(2010 年版第二增补本)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 29.
Chinese Pharmacopoeia Commission. The Chinese Pharmacopoeia (2010 edition of the second supplement) [M]. Beijing: Chinese Medicine Press, 2010: 29.
- [3] 刘龙涛, 吴敏, 王红霞, 等. 降脂红曲微粉治疗血脂异常合并颈动脉粥样硬化的随机对照研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 09: 1196-1200.
Liu LT, Wu M, Wang HX, et al. Clinical study on the treatment of abnormal blood lipids complicated with carotid atherosclerosis with lipid-reducing red rice minute powder: A randomized controlled trial [J]. Chin J Integ Trad West Med, 2011, 09: 1196-1200.
- [4] 赵珺彦, 刘小杰. 红曲-植物甾醇酯复方制剂调血脂作用研究[J]. 中草药, 2011, 11: 2296-2299.
Zhao JY, Liu XJ. Blood lipid regulation of semen oryzae cum monasco and phytosterol esters compound preparation [J]. Chin Trad Herbal Drug, 2011, 11: 2296-2299.
- [5] 刘臻, 来伟旗, 刘冬英, 等. 复合红曲胶囊辅助大鼠降血脂作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 03: 819-822.
Liu Z, Lai WQ, Liu DY, et al. Study of the auxiliary hypolipidemic function of monascus pigment compound capsules in rats[J]. J Food Saf Qual, 2013, 03: 819-822.
- [6] 肖培根主编. 新编中药志(三)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002, 872.
Xiao PG Ed. Modern Chinese Materia Medica (III)[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002, 872.
- [7] 陈利明, 杨红兵, 苑留云, 等. 富硒灵芝对动脉粥样硬化大鼠血脂代谢及内皮细胞损伤的影响[J]. 河北中医药学报, 2012, 01: 10-11.
Chen LM, Yang HB, Yuan LY, et al. Blood lipid metabolism of atherosclerosis rats and endothelial cell injury under the influence of Se-enriched ganoderma [J]. J Hebei Trad Chin Med Pharma, 2012, 01: 10-11.
- [8] 蒙田秀, 龚志强, 黄振园, 等. 白鹤灵芝不同提取部位抗鸸鹋高血脂症及动脉粥样硬化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 08: 166-169.
Meng TX, Gong ZQ, Hunag ZY, et al. Effect of various extracts of *Rhinacanthus nasutus*. on anti quail hyperlipidemia and atherosclerosis [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2014, 08: 166-169.
- [9] 南京中医药大学. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001, 478.
Nanjing University of Chinese Medicine. Chinese Medicine Dictionary (I) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2001, 478.
- [10] 肖培根主编. 新编中药志(一)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002, 212.
Xiao PG Ed. Modern Chinese Materia Medica(I) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002, 212.
- [11] 李春梅, 杨日福, 顾取良, 等. 丹参水提取物对去卵巢大鼠血脂和肝脏的影响[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2012, 12: 151-156.
Li CM, Yang RF, Gu QL, et al. Effects of aqueous extract from *Salvia miltiorrhiza* bunge on serum lipid level and liver in ovariectomized rats [J]. J South China Univ Technol (Nat Sci), 2012, 12: 151-156.
- [12] 马美菊. 丹参治疗心血管疾病的临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 07: 62-63.
Ma MJ. Clinical observation of *Salvia miltiorrhiza* in the treatment of cardiovascular diseases [J]. Chin Med Mod Dist Educ China, 2011, 07: 62-63.
- [13] 中华人民共和国卫生部. 《保健食品检验与评价技术规范》(2003 版)
Ministry of Health, PRC. 《Technical Standards for Testing & Assessment of Health Food》(The 2003 Edition).
- [14] 吴爱琴, 郑定仙, 黄业宇, 等. 海南沉香茶的安全性毒理学评价[J]. 中国热带医学, 2007, 7(7): 1226-1227.
Wu AQ, Zheng DX, Huang YY, et al. Hainan aloes tea toxicological safety evaluation [J]. China Trop Med, 2007, 7(7): 1226-1227.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



宋愿智, 副主任药师, 主要研究方向
为食品药品安全检测。
E-mail shipnshi@126.com