

复方刺五加片毒理学安全性及缓解体力疲劳 功效研究

陈 耿[#], 陈东亚[#], 刘 协, 赵 荣, 施伟庆, 吕中明, 俞 萍,
卞 倩, 陈新霞^{*}, 奚清丽^{*}

(江苏省疾病预防控制中心, 毒理与风险评估研究所, 南京 210009)

摘 要: **目的** 评价一种以刺五加、肉苁蓉、西洋参、丹参为原料的复方保健食品毒理学安全性和缓解体力疲劳功效。**方法** 依据《保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)》, 进行急性经口毒性、遗传毒性、30 d 亚急性毒性以及缓解体力疲劳动物功能学等试验。**结果** 该复方刺五加片对雌、雄 ICR 小鼠急性经口最大耐受剂量值均 >15.00 g/(kg·BW); 鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验, 以 5000 μ g/皿为最高剂量, 不论加 S9 与否, 该样品对 TA97a、TA98、TA100 和 TA102 4 组标准测试菌株的回复突变数均未超过相应水对照组值的 2 倍; 小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠睾丸染色体畸变试验, 与溶剂对照相比, 样品各剂量组骨髓细胞微核率、睾丸初级精母细胞性染色体单价体率、常染色体单价体率、细胞畸形率均无显著性差异($P>0.05$); 30 d 亚急性毒性试验未发现该样品对 SD 大鼠生长、活动、体质量、摄食量、食物利用率、血液生理生化指标以及主要组织器官的毒理学病理学效应; 小鼠缓解体力疲劳功效试验, 该复方刺五加片 0.46 g/(kg·BW)组负重游泳时间显著延长($P<0.01$), 运动前后 3 个时间点血乳酸曲线下面积显著减少($P<0.01$), 0.46、1.38 g/(kg·BW)组血清尿素氮显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 该复方刺五加片具有缓解体力疲劳功效, 且未见明显急性毒性或遗传毒性, 其对雌、雄 SD 大鼠 30 d 经口毒性未观察到有害作用的水平分别为 5.29、5.14 g/(kg·BW)(相当于成人推荐摄入量的 115 和 112 倍)。**关键词:** 刺五加; 肉苁蓉; 西洋参; 丹参; 安全性; 抗疲劳

Study on toxicological safety and alleviating physical fatigue function of compound *Acanthopanax senticosus* tablets

CHEN Geng[#], CHEN Dong-Ya[#], LIU Xie, ZHAO Rong, SHI Wei-Qing, LV Zhong-Ming,
YU Ping, BIAN Qian, CHEN Xin-Xia^{*}, XI Qing-Li^{*}

(Institute of Toxicology and Risk Assessment, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention,
Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the toxicological safety and alleviating physical fatigue function of compound health food with *Acanthopanax senticosus*, *Cistanche deserticola*, *American ginseng* and *Salvia miltiorrhiza* as raw

[#]陈 耿、陈东亚为共同第一作者

[#]CHEN Geng and CHEN Dong-Ya are Co-first Authors

^{*}通信作者: 陈新霞, 副主任技师, 主要研究方向为保健食品功能与毒理学研究。E-mail: 461207743@qq.com

奚清丽, 主任技师, 主要研究方向为保健食品功能与毒理学研究。E-mail: 13913946652@163.com

^{*}Corresponding author: CHEN Xin-Xia, Associate Chief Technician, Institute of Toxicology and Risk Assessment, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, No.172, Jiangsu Road, Gulou District, Nanjing 210009, China. E-mail: 461207743@qq.com

XI Qing-Li, Chief Technician, Institute of Toxicology and Risk Assessment, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, No.172, Jiangsu Road, Gulou District, Nanjing 210009, China. E-mail: 13913946652@163.com

materials. **Methods** According to the “*Technical standards for testing & assessment of health food (2003 edition)*”, the tests of acute oral toxicity, genetic toxicity, 30 days sub-acute dietary toxicity and alleviating physical fatigue function were performed. **Results** The acute oral maximum tolerable dose values of the compound *Acanthopanax senticosus* tablets in the female and male ICR mice were $>15.00 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$; *Salmonella typhimurium*/mammals microsomal enzyme test, set $5000 \mu\text{g}/\text{plate}$ as the highest concentration, the colony numbers of 4 standard test bacterial strains (TA97a, TA98, TA100 and TA102) in all test article concentrations were less than twice that in corresponding solvent control in the presence or absence of S9 mix; mice tests of bone marrow cells micronucleus and testicle cells chromosome aberration, compared with negative control group, there were no significant differences in the micronucleus rate of bone marrow cells, the monovalent rate of sex-somal and autosomal, as well as the aberration rate of primary spermatocyte from each dose of the sample ($P>0.05$); no toxicological/pathological effects of the compound *Acanthopanax senticosus* tablets on growth, behavioral activity, body weight, feed intake, feed utilization rate, blood physiological and biochemical indicators, cardinal tissues and organs in SD rats were found, after 30 days continuous feeding trial. The efficacy test for relieving physical fatigue in mice, the load-bearing swimming time in the $0.46 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ group was significantly prolonged ($P<0.01$), the area under the blood lactic acid curve at 3 time points before and after exercise was significantly reduced ($P<0.01$), and the serum urea nitrogen in the 0.46 and $1.38 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ groups was significantly reduced ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** The compound *Acanthopanax senticosus* tablets has a function on alleviating physical fatigue, without acute toxicity or genetic toxicity; the no observed adverse effect level of male and female SD rats in sub-acute dietary toxicity study for the compound *Acanthopanax senticosus* tablets for 30 days are $5.29, 5.14 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ respectively (as 115 and 112 times as the recommended dose in adults).

KEY WORDS: *Acanthopanax senticosus*; *Cistanche deserticola*; *American ginseng*; *Salvia miltiorrhiza*; safety; alleviating physical fatigue

0 引 言

不同于脑力劳动、心理压力或疾病伴随的“疲劳感”, 体力疲劳是体力劳动和(或)运动引起体力下降的感觉, 与身体承受的体力负荷大小直接相关。研究表明, 补充适宜的物质有助于缓解体力疲劳^[1]。很多中草药因其所富含的多酚类、萜类和生物碱等活性物质具有调节身体机能进而发挥强身健体之功效^[2]。

刺五加 [*Acanthopanax senticosus* (Rupr.et Maxim.) Hams] 为五加科 (Araliaceae) 多蕊木族 (Plerandreae) 五加属 (*Acanthopanax*) 刺五加组 (Sect. *Eleutherococcus*) 灌木^[3], 常以其根和根茎入药, 性温, 味微辛、稍苦、涩, 具有益气健脾、补肾安神之功效^[4]。肉苁蓉 (*Cistanche deserticola* Y. C. Ma) 为列当科 (Orobanchaceae) 肉苁蓉属 (*Cistanche*) 肉苁蓉组 (Sect. *Cistanche*) 多年生草本^[5], 以其干燥带鳞叶的肉质茎入药, 性温, 味甜、微苦, 具补肾阳、益精血、润肠通便之功效^[6]。西洋参 (*American ginseng*) 为五加科 (Araliaceae) 人参族 (Panaceae) 人参属 (*Panax*) 西洋参组 (Sect. *Panax quinquefolium* L.) 多年生草本^[7], 以其干燥根入药, 性凉, 味甘、微苦, 具补气养阴、清热生津之功效^[8]。丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bge.) 为唇形科 (*Labiatae*) 野芝麻亚科 (*Lamioideae*) 鼠尾草族 (*Salviae*) 鼠尾草属 (*Salvia*) 荔枝草亚属 (*Subgen. Sclarea*) 丹参组 (Sect. *Drymospace*) 丹参系 (Ser.

Miltiorrhizae) 多年生直立草本^[9], 以其干燥根和根茎入药, 性微寒, 味微苦涩, 具活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈之功效^[10]。

上述 4 种原料均被《中华人民共和国药典(2020 年版)》收载。其中, 刺五加、西洋参、丹参均为可用于保健食品的物品^[11]。肉苁蓉是我国西北荒漠高(草)原特有的野生资源, 也是西北地区传统道地药材^[12], 出于中药材资源、野生动植物以及生态保护等方面的考虑, 我国卫生行政部门于 2001 年将其列入限制使用保健食品原料目录, 即禁止使用其野生产品, 但人工栽培产品可作为保健食品原料^[13]。肉苁蓉在内蒙古自治区有作为炖肉、炒菜、泡茶、泡酒等食材的食用历史。西洋参在山东省等地区有作为切片泡水饮用、加工成细粉添入粥中食用、煲汤或直接烹制各种菜肴等食材的食用历史; 按照传统习惯正常食用, 未见不良反应报道^[14]。2019 年我国卫生行政部门明确将肉苁蓉、西洋参列入食药物质管理试点工作名录^[15]。根据“国家特殊食品信息查询平台”的检索数据^[16], 截止 2022 年 1 月 24 日, 我国已获批准注册的缓解体力疲劳类保健食品有 1234 件, 其中原料含刺五加、肉苁蓉、西洋参、丹参的分别有 112、15、364、18 件, 而以刺五加-肉苁蓉、肉苁蓉-刺五加、刺五加-西洋参、西洋参-刺五加、刺五加-丹参、丹参-刺五加、肉苁蓉-西洋参、西洋参-肉苁蓉、西洋参-丹参、丹参-西洋参配伍的分别有 2、1、4、10、1、0、0、0、0 和 0 件。由此可见, 以刺五加、肉苁蓉、

西洋参、丹参为原料的缓解体力疲劳保健食品在产品组方面具有一定的新颖性。以我国传统“补气助阳、养阴清热”缓解体力疲劳中医学理论为基础,由上述4种保健食品原料配伍,结合制备工艺、产品质量稳定性、口感及方便食用等因素研制而成的复方刺五加缓解体力疲劳片,表现出一定的科学性与较好的应用前景。

为验证该复方产品的食用安全性和缓解体力疲劳功效,本研究依据《保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)》对其进行毒理学安全性评价及缓解体力疲劳动物功效学研究,为产品开发应用提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 受试物

以刺五加、肉苁蓉、西洋参、丹参为原料,经提取、浓缩、喷雾干燥、粉碎,加入微晶纤维素混合、制粒,加入交联羧甲基纤维素钠、硬脂酸镁总混、压片、包衣、灌装等主要加工工艺制成片型保健食品,0.92 g/片。100 g 制剂中,相当于含刺五加、肉苁蓉、西洋参、丹参原药材 181、109、72 和 72 g,含标志性成分总皂苷(total ginsenoside)、紫丁香苷(syringin)、[松果菊苷(echinacoside)和毛蕊花糖苷(verbascoside)]分别 ≥ 1.10 、0.04、0.50 g。该产品由连云港某保健食品公司生产,批号:20170601。送检样品为压片前颗粒,将其充分研磨后备用,成人推荐剂量为 2.76 g/(人·d),体质量以 60 kg 计,即 0.046 g/(kg·BW·d)。

1.1.2 实验动物及设施

无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级 ICR 小鼠和 4 周龄健康 SD 大鼠,分别购自北京维通利华实验动物有限公司南京分公司[生产许可证号:SCXK(苏)2016—0003]和北京维通利华实验动物有限公司[生产许可证号:SCXK(京)2016—0011]。实验动物屏障环境设施使用许可证号:SYXK(苏)2017—0031。环境温度:20~24℃;相对湿度:40%~70%。小鼠饲料来源于北京科奥协力饲料有限公司,合格证号:SCXK(京)2014—0010。大鼠饲料来源于苏州双狮实验动物饲料科技有限公司,合格证号:苏饲证(2017)050005。饲料和灭菌水自由食用。

1.1.3 菌株

组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门菌菌株 TA97a、TA98、TA100 和 TA102(美国 MOLTOX 公司),经营养肉汤培养过夜后,细菌浓度均 $\geq 10^9$ 个/mL。

1.1.4 主要试剂与仪器

敌克松[fenaminosulf, Dexon, 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ (MeOH),美国 Accustandard 公司];叠氮钠(sodium azide, NaN_3 , 纯度 $\geq 99.5\%$,东阳市天宇化工有限公司);多氯联苯混合物(Aroclor1254)诱导后制成的大鼠肝 S9 (hepatic post-mitochondrial supernatant, 货号: 6-1002, 江

苏齐氏生物科技有限公司);2-氨基芴(2-aminofluorene, 2-AF, 纯度 $\geq 97.0\%$, 瑞士 FLUKA 公司);1,8-二羟基蒽醌(1,8-dihydroxy-anthrachinon, 1,8-DHAQ, 纯度 $\geq 96.0\%$)、环磷酰胺(cyclophosphamide, CP, 纯度 $\geq 97.0\%$)(美国 SIGMA 公司);丝裂霉素(mitomycin C, MMC, 纯度 $\geq 98.0\%$, 日本 Tokyo Chemical Industry 株式会社);秋水仙素(colchicine, 纯度 $\geq 94.0\%$, 国药集团化学试剂有限公司);全套血液学质控品及分析试剂(美国 Siemens Healthcare Diagnostics 公司);全套生化质控品及试剂盒(宁波美康生物科技股份有限公司);糖原测定试剂盒(货号: A043, 南京建成生物工程研究所);Chip Sensor Lactate TypeII(德国 EKF Diagnostic 公司)。

G&G[®]T-500 型电子天平(精度 0.1 g, 常州市双杰测试仪器厂);JA2103N 电子天平(精度 0.001 g, 上海民桥精密科学仪器有限公司);Flash & Go 全自动菌落成像分析系统(西班牙 IUL 公司);ADVIA[®]2120 全自动五分类血液分析仪(美国 Siemens Healthcare Diagnostic 公司);AU640 全自动生化分析仪(日本 OLYMPUS 公司);HistoCore PEARL 全封闭组织脱水机(德国 LEICA 公司);PANNORAMIC MIDI 数字病理扫描分析仪(匈牙利 3DHISTECH 公司);SCIENTZ-IIID 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);TU1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);Biosen C-Line 葡萄糖/乳酸自动分析仪(德国 EKF Diagnostic 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 小鼠急性经口毒性试验

设计剂量为 15.00 g/(kg·BW),称取样品 15.00 g 加纯净水至 40 mL 配制成受试物。体质量 18.2~21.9 g ICR 小鼠 20 只,雌、雄各半,禁食 16 h 后分 2 次灌胃给予受试物,中间间隔 4 h,灌胃容量均为 20 mL/(kg·BW),末次灌胃后 4 h 给食,观察并详细记录动物的中毒表现、死亡数和死亡时间,观察期 14 d。中毒死亡及人道处死的动物立即进行大体剖检,若有异常则取材做组织病理学检查。

1.2.2 鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验(Salmonella typhimurium/mammals microsomal enzyme test, Ames 试验)

称取样品 1.00 g,充分研磨后加纯净水定容至 20 mL, 121℃、20 min 灭菌后作为受试物。预试验以 5000 $\mu\text{g/mL}$ 为最高测试剂量,未见污染或抑菌。正式试验时,采用 5000、1000、200、40、8 $\mu\text{g/mL}$ 5 个样品剂量组,另设空白对照组(自发回变组)、溶剂对照组(灭菌纯净水)以及 4 个阳性对照组,阳性对照物 Dexon、 NaN_3 、2-AF 和 1,8-DHAQ 配制所需的溶媒和剂量见文献[17]。在 45℃顶层培养液中依次加入测试菌株新鲜增菌液和受试物各 0.1 mL,需活化时加入 10% (V/V) S9 混合液 0.5 mL,否则加入 0.2 mol/L pH 7.4 的磷酸盐缓冲液 0.5 mL,充分混匀后,迅速倾入底层培养基上,转动平板使顶层培养液均匀分布在底层上。平板固化

后, 37℃恒温培养 48 h 后观察计数, 每组设 3 个平行样。相同测试条件下重复 1 次。

1.2.3 小鼠骨髓细胞微核试验

分别称取样品 2.50、5.00、10.00 g 加纯净水至 30 mL 配制成各剂量组受试物, 称取 0.04 g 环磷酰胺加纯净水至 30 mL 作为阳性对照。体质量 25.0~26.1 g ICR 小鼠 50 只, 分性别按体质量随机分入溶剂对照组(纯净水)、阳性对照组[CP 0.04 g/(kg·BW)]以及 2.50、5.00、10.00 g/(kg·BW) 3 个样品剂量组(分别相当于成人日推荐摄入量的 54、109、217 倍), 每组 10 只, 雌、雄各半。受试物及对照品均间隔 24 h 分两次灌胃给予, 灌胃容量均为 30 mL/(kg·BW), 末次灌胃后 6 h 颈椎脱臼处死小鼠, 取股骨骨髓悬于小牛血清中涂片、甲醇固定、姬姆萨染色, 油镜下观察嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE) 1000 个/鼠, 计数含微核的细胞数。每只小鼠观察 200 个 PCE 的同时计数所见到的正染红细胞(normochromatic erythrocyte, NCE)数, 并计算比率(PCE/NCE)。

1.2.4 小鼠睾丸染色体畸变试验

样品的剂量设计及配制方法同 1.2.3。称取 2 mg 丝裂霉素加生理盐水至 10 mL 作为阳性对照。体质量 25.1~26.4 g 健康雄性 ICR 小鼠 25 只, 按体质量随机分入溶剂对照组(纯净水)、阳性对照组[MMC 2 mg/(kg·BW)]以及 2.50、5.00、10.00 g/(kg·BW) 3 个样品剂量组, 每组 5 只。溶剂对照组和样品各剂量组采用经口灌胃给予, 灌胃容量为 30 mL/(kg·BW), 1 次/d, 连续 5 d; 阳性对照组采用一次性腹腔注射给予, 注射容量为 10 mL/(kg·BW)。小鼠于首次灌胃后 14 d 颈椎脱臼处死, 取睾丸制片; 处死前 6 h 以 4 mg/(kg·BW)的量腹腔注射秋水仙素, 注射容量为 10 mL/(kg·BW)。油镜下观察中期相细胞 100 个/鼠, 记录 X-Y 和常染色体单价体、断片、相互易位(环状或链状多价体)、畸形细胞数等, 计算畸形细胞率, 见公式(1)。

畸形细胞率/%=(畸形细胞数/分析细胞总数)×100% (1)

1.2.5 大鼠 30 d 喂养试验

适应 3 d 消除应激且检疫合格的 SD 大鼠 80 只, 分性别按体质量随机分入 0、1.15、2.30 和 4.60 g/(kg·BW) 4 个剂量组(相当于推荐剂量的 0、25、50、100 倍), 每组 20 只, 雌、雄各半。大鼠每日摄食量按其体质量的 10%计算。分别称取样品 230、460 和 920 g, 采用逐级稀释法掺入实验鼠维持饲料至 20 kg, 充分混匀后制成颗粒饲料, 经⁶⁰Co 辐照灭菌后投喂动物。大鼠单笼饲养, 连续饲喂 30 d。

(1)一般观察

观察大小便、摄食及活动等情况(2 次/d), 视纳食情况调整喂食量; 称体质量(1 次/w)、食物摄入量(2 次/w), 计算每周及总的食物利用率, 见公式(2)。

食物利用率/%=体质量增长(g)/食物摄入量(g)×100% (2)

(2)标本采取

试验末期, 大鼠禁食不禁水 16 h 后, 称量其空腹体

量, 股动脉取血, 并于放血处死后立即进行大体剖检, 同时摘取肝、脾、肾、睾丸等组织脏器称重并计算脏器比, 见公式(3)。取肝、脾、胃、小肠、肾、卵巢(雌)和睾丸(雄)等组织, 置 10% (V:V)福尔马林溶液固定保存。

脏器比/%=脏器湿重/空腹体质量×100% (3)

(3)测定指标及方法

各项血液学、血生化及相关组织病理学检查的指标和检测方法见参考文献[17-19]。

1.2.6 小鼠缓解体力疲劳功能学试验

分别称取样品 1.15、2.30 和 6.90 g 加纯净水至 100 mL 配制成各剂量组受试物。体质量 18.0~22.0 g 的雄性 ICR 小鼠 160 只, 按体质量随机分入溶剂对照组(纯净水)和 0.23、0.46、1.38 g/(kg·BW) 3 个样品剂量组(分别相当于成人日推荐摄入量的 5、10、30 倍), 每组 40 只。各组动物经口灌胃给予纯净水或相应剂量受试物 1 次/d, 连续 30 d, 灌胃容量均为 20 mL/(kg·BW)。末次灌胃 30 min 后, 依据不同的检测项目将各组动物进一步细分为游泳试验小组以及血清尿素氮、肝糖原、血乳糖 3 个生化检测小组, 每小组 10 只小鼠。

(1)负重游泳试验

置尾根部负荷 5%体质量铅皮的小鼠于游泳箱中, 水深>30 cm, 水温 24~26℃, 记录从游泳开始至死亡的时间, 作为小鼠负重游泳时间。

(2)血清尿素氮含量的测定

小鼠在温度为 30℃的水中游泳 90 min, 休息 60 min 后采血, 分离血清后采用生化分析仪进行检测。

(3)肝糖原含量测定

颈椎脱臼处死小鼠, 精确称取肝脏 0.1 g, 按程序匀浆、离心、95%乙醇沉淀糖原, 蒽酮法测定肝糖原含量。

(4)血乳酸测定

首先眼内眦静脉采血测定安静状态下小鼠的血乳酸基础值; 30℃水中游泳 10 min 后, 捞起擦干, 立即行第 2 次眼内眦静脉采血; 休息 20 min 后再行第 3 次眼内眦静脉采血。上述血样均采用葡萄糖/乳酸自动分析仪进行检测。

上述动物试验方案均通过江苏省疾病预防控制中心实验动物福利伦理委员会伦理审查。

1.3 数据统计

所有数据均以 SPSS 25.0 和 Excel 2010 软件进行统计处理和推断。动物体质量、进食量、食物利用率、脏器湿重、脏器比、血液学和血生化检测指标, 以及负重游泳时间等计量资料, 以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间差异采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA), 即先分别采用 Shapiro-Wilk 检验和 Levene's 检验进行正态性和方差齐性检验, 满足正态分布且方差齐性数据采用 Dunnett-t 检验, 否则采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。微核率、染色体畸形细胞数等计数资料, 组间差异性比较采用

χ^2 检验。组织病理学等级资料, 根据病变范围和(或)严重程度, 以“未见(0)”“极轻度(1)”“轻度(2)”“中度(3)”“重度(4)”进行量化评分后, 组间差异性比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。与对照组之间的差异显著性分别以“*、**”表示“ $P<0.05$ 、 $P<0.01$ ”。

2 结果与分析

2.1 小鼠急性经口毒性试验

灌胃给予该样品后, 小鼠未见明显中毒表现, 观察期内无死亡, 体质量增加无明显受抑, 观察期结束时大体剖检未见明显异常。该样品最大耐受剂量(maximum tolerable dose, MTD) $>15.00\text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$, 根据急性毒性分级标准, 其对小鼠急性经口毒性属无毒级。见表 1。

2.2 Ames 试验

2 次测试, 不论加 S9 与否, 在 $5000\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ 的最高剂量条件下, 样品各剂量组 TA97a、TA98、TA100 和 TA102 4

组标准测试菌株的回复突变数均未超过相应水对照组值的 2 倍, 亦无剂量-反应关系, 提示该样品无明显诱变活性。见表 2。

2.3 小鼠骨髓细胞微核试验

样品各剂量组小鼠 PCE 占红细胞总数的比例不低于对照组相应数值的 20%, 提示骨髓红细胞的增殖并未明显受抑, 不影响 PCE 微核的结果判定。与溶剂对照相比, 阳性对照组微核细胞率显著增高($P<0.01$), 样品各剂量组微核细胞率未见显著变化($P>0.05$), 也无剂量-反应关系, 提示该样品对雌、雄小鼠骨髓 PCE 无致微核作用。见表 3。

2.4 小鼠睾丸染色体畸变试验

与溶剂对照相比, 阳性对照组小鼠睾丸初级精母细胞性染色体单价体率、常染色体单价体率、畸形细胞率均显著增加($P<0.01$), 样品各剂量组上述指标均无显著性差异($P>0.05$), 也无剂量-反应关系, 提示该样品对小鼠睾丸初级精母细胞染色体无致畸变作用。详见表 4。

表 1 小鼠急性经口毒性试验结果
Table 1 Results of mice acute oral toxicity test

性别	剂量 /[g/(kg·BW)]	动物数/只	0 d 体质量/g	7 d 体质量/g	14 d 体质量/g	死亡动物数/只	死亡率/%	MTD /[g/(kg·BW)]
雌	15.00	10	19.6±1.3	25.6±0.6	29.2±0.8	0	0	>15.00
雄	15.00	10	19.7±1.3	27.0±0.8	30.8±1.5	0	0	>15.00

表 2 Ames 试验结果($\bar{x}\pm s, n=3$)
Table 2 Results of Ames test ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	TA97a		TA98		TA100		TA102	
	+S ₉	-S ₉	+S ₉	-S ₉	+S ₉	-S ₉	+S ₉	-S ₉
第 1 次测试								
自发回变	122±9	115±8	33±4	32±3	120±6	144±7	295±7	287±24
水对照	115±9	128±4	37±3	31±2	123±6	141±5	305±7	295±8
8 $\mu\text{g}/\text{mL}$	105±8	100±5	30±2	34±2	113±11	149±4	286±12	286±10
40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	98±14	104±9	31±1	36±5	122±6	141±5	277±8	292±4
200 $\mu\text{g}/\text{mL}$	97±11	92±4	32±4	38±3	114±11	150±7	284±23	287±7
1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	90±10	83±15	32±4	39±3	131±15	146±11	290±15	298±15
5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	101±14	90±4	31±4	37±3	118±12	155±9	311±9	318±7
阳性对照	1052±69	1142±96	896±35	769±99	905±8	922±107	830±82	888±40
第 2 次测试								
自发回变	115±10	120±8	34±2	32±3	116±13	135±7	289±5	283±16
水对照	121±4	111±6	31±3	34±4	118±2	141±5	305±7	301±12
8 $\mu\text{g}/\text{mL}$	110±3	109±6	32±3	34±2	128±6	147±5	279±17	303±18
40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	111±12	103±5	33±3	34±5	136±14	153±11	275±8	307±13
200 $\mu\text{g}/\text{mL}$	103±8	91±5	31±3	33±3	124±9	156±6	282±5	312±10
1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	93±9	87±9	32±4	34±2	133±9	161±15	284±10	302±19
5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	106±8	88±4	32±3	33±1	130±10	162±4	280±16	316±5
阳性对照	1056±168	1057±94	838±96	812±96	914±19	873±100	927±35	791±40

注: +S₉表示反应体系中加入 10% (V/V)大鼠肝细胞微粒体混合功能氧化酶; -S₉表示反应体系中加入 10% (V/V)大鼠肝细胞微粒体混合功能氧化酶。

表 3 小鼠骨髓微核试验结果
Table 3 Results of mice bone marrow micronucleus test

性别	组别/[g/(kg·BW)]	PCE 数/个	含微核 PCE 数/个	微核细胞率/‰	PCE/NCE
雌性	0	1000×5	10	2.0±0.7	1.16±0.07
	2.50	1000×5	8	1.6±0.5	1.10±0.06
	5.00	1000×5	11	2.2±0.8	1.11±0.06
	10.00	1000×5	9	1.8±0.8	1.13±0.05
	CP 0.04	1000×5	115	23.0±3.2**	1.07±0.06
雄性	0	1000×5	10	2.0±0.7	1.14±0.10
	2.50	1000×5	9	1.8±0.4	1.12±0.03
	5.00	1000×5	8	1.6±0.9	1.12±0.08
	10.00	1000×5	8	1.6±0.5	1.12±0.10
	CP 0.04	1000×5	119	23.8±3.5**	1.09±0.03

注: **表示 $P<0.01$, 下同。

表 4 小鼠睾丸染色体畸变试验结果($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Results of mice testicle cells chromosome aberration test ($\bar{x} \pm s$)

组别	观察中期相 细胞数/个	性染色体单价 体率/%	常染色体 单价体率/%	染色体畸变类型/个				畸形 细胞率/%
				裂隙	断片	链状四价体	其他	
0 g/(kg·BW)	100×5	2.6±1.1	1.2±0.4	2	4	0	0	1.2±0.8
2.50 g/(kg·BW)	100×5	2.4±1.1	1.8±0.8	2	5	0	0	1.4±0.9
5.00 g/(kg·BW)	100×5	2.4±1.1	1.6±0.5	0	6	0	0	1.2±0.4
10.00 g/(kg·BW)	100×5	2.6±1.1	1.8±0.4	2	5	0	0	1.4±1.1
MMC 2 mg/(kg·BW)	100×5	9.2±1.3**	6.4±1.1**	17	43	2	0	12.4±2.3**

2.5 大鼠 30 d 喂养试验

2.5.1 一般情况

试验期间, 各组大鼠被毛、行为活动、饮水以及尿液、大便外观等未见明显异常, 无动物死亡。

2.5.2 生长曲线变化情况

与对照组相比, 样品各剂量组雌、雄大鼠多个观察点的体质量及总增重均无显著性差异($P>0.05$), 表明该样品对雌、雄大鼠生长无明显影响。见图 1。

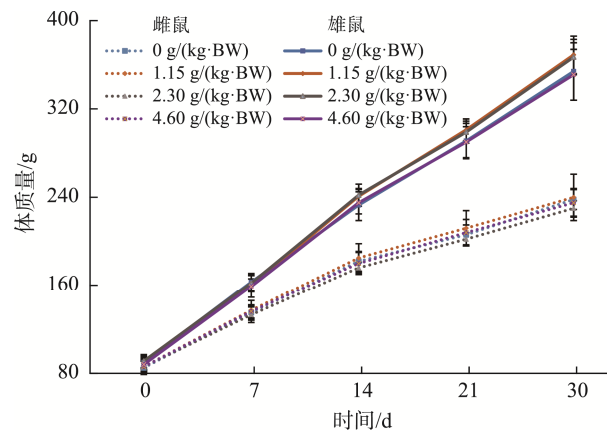


图 1 30 d 喂养试验大鼠的体质量变化($n=10$)
Fig.1 Body weight changes of rats in 30 days sub-acute toxicity test ($n=10$)

2.5.3 摄食量和食物利用率情况

最高剂量组雌、雄大鼠的实际摄入剂量分别为 5.29、

5.14 g/(kg·BW), 相当于成人日推荐摄入量的 115、112 倍。与对照组相比, 样品各剂量组雌、雄大鼠多个观察点及总的摄食量和食物利用率均无显著性差异($P>0.05$), 表明该样品对雌、雄大鼠摄食和食物利用率无明显影响。见表 5。

2.5.4 血液学和血生化检测结果

与对照组相比, 雌性大鼠 4.60 g/(kg·BW)剂量组总胆固醇(total cholesterol, TC)显著升高($P<0.05$), 但数值在本实验室历史正常值范围内(雌性大鼠 TC 95%参考区间: 1.12~3.33 mmol/L), 且无剂量-反应关系, 其余各剂量组多项血液学、血生化指标值均无显著性差异($P>0.05$), 故不认为具有生物学意义。见表 6。

2.5.5 大体剖检和组织病理学检查结果

各组大鼠肝、脾、胃、十二指肠、肾、卵巢(雌)和睾丸(雄)的大体剖检均未见明显异常。与对照组相比, 样品各剂量组大鼠空腹体质量和主要脏器湿重及脏体比均未见明显差异($P>0.05$)。见表 7。

对 4.60 g/(kg·BW)剂量组和对照组全部大鼠的肝、脾、胃、十二指肠、肾、卵巢(雌)及睾丸(雄)进行组织病理学检查, 除个别大鼠肝、脾、肾存在一些轻度自发性病变外, 未发现与该复方刺五加片明显有关的组织病理学改变。未对其余剂量组大鼠进行组织病理学检查。

2.6 缓解体力疲劳试验小鼠体质量变化

与溶剂对照组相比, 样品各剂量组 0、7、14、21、30 d 雄性小鼠体质量均无显著性差异($P>0.05$), 提示该样品对雄性小鼠生长无明显影响。见图 2。

表 5 30 d 喂养试验大鼠摄食量、食物利用率和实际摄取剂量($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 Feed intakes, utilization rates and actual intakes dose of rats in 30 days sub-acute toxicity test ($\bar{x} \pm s, n=10$)

项目	雌鼠				雄鼠			
	0	1.15	2.30	4.60	0	1.15	2.30	4.60
	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)
进食量								
1~7 d/g	118±7	117±9	120±12	113±9	135±5	133±7	138±11	131±7
8~14 d/g	140±10	140±14	131±10	132±12	176±8	176±5	178±7	175±6
15~21 d/g	149±6	148±10	144±7	147±9	201±9	200±10	199±11	196±7
22~30 d/g	196±6	190±16	186±17	190±20	259±11	258±20	261±14	251±18
总进食量/g	603±19	595±42	584±32	582±33	771±24	768±29	777±38	752±27
食物利用率								
1~7 d/%	42.8±5.9	43.6±9.6	39.1±5.5	45.2±8.1	53.8±2.0	52.2±4.1	51.8±3.0	54.9±5.1
8~14 d/%	33.0±6.1	34.8±4.5	33.1±4.5	32.6±5.0	40.1±9.6	46.2±2.4	44.4±2.8	43.4±2.7
15~21 d/%	16.5±3.7	18.0±4.0	18.4±2.9	19.3±5.5	28.8±12.6	30.1±3.1	28.8±7.7	28.3±10.3
22~30 d/%	16.2±2.6	14.5±3.6	15.1±3.1	14.4±2.6	24.3±5.3	26.2±2.7	26.0±7.8	24.0±10.7
总食物利用率/%	25.3±1.6	25.8±3.0	24.8±2.5	25.7±2.3	34.2±3.1	36.3±1.3	35.5±1.6	35.0±2.0
实际摄取剂量 /[g/(kg·BW)]	—	1.33±0.07	2.70±0.17	5.29±0.29	—	1.27±0.03	2.56±0.10	5.14±0.20

注: —表示未检测, 下同。

表 6 30 d 喂养试验大鼠血液学和血生化数值($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Hematological and biochemical values of rats in 30 days sub-acute toxicity test ($\bar{x} \pm s, n=10$)

项目	雌鼠				雄鼠			
	0	1.15	2.30	4.60	0	1.15	2.30	4.60
	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)
血液学								
WBC/(10 ⁹ /L)	8.3±1.9	8.8±2.5	7.2±1.1	7.8±1.8	9.4±1.7	8.5±1.9	8.3±2.1	7.9±1.4
RBC/(10 ¹² /L)	7.2±0.2	7.2±0.4	7.1±0.5	7.2±0.3	7.4±0.3	7.2±0.5	7.1±0.2	7.1±0.2
Hb/(g/L)	131±5	131±6	129±9	128±5	132±6	130±10	130±5	128±4
PLT/(10 ⁹ /L)	1154±114	1200±139	1100±172	1204±194	1114±123	1094±93	1067±132	1160±89
NE/%	13.0±4.4	11.4±4.5	11.8±4.3	12.6±4.7	14.4±3.4	12.6±2.6	12.2±2.7	12.6±4.0
LY/%	82.5±4.9	84.0±6.6	83.3±5.8	82.4±5.6	81.7±3.6	83.4±3.0	83.6±3.3	83.8±4.8
MO/%	2.9±0.7	2.7±1.2	2.8±0.8	3.1±1.1	2.7±0.9	2.6±0.9	2.8±1.1	2.4±1.2
EO/%	1.01±0.46	1.16±1.24	1.25±1.15	1.19±0.33	0.73±0.27	0.86±0.30	0.94±0.25	0.89±0.33
BA/%	0.15±0.05	0.18±0.06	0.20±0.05	0.15±0.08	0.17±0.08	0.17±0.07	0.15±0.05	0.16±0.08
血生化								
ALT/(U/L)	42±8	43±7	44±10	43±17	48±9	43±6	45±6	42±7
AST/(U/L)	149±31	146±26	153±28	170±47	144±25	158±29	135±19	151±21
GLU/(mmol/L)	5.2±0.4	5.2±0.6	5.0±0.6	5.4±0.6	5.3±0.7	5.1±0.8	4.9±0.5	5.3±0.5
TG/(mmol/L)	0.75±0.34	0.88±0.37	0.62±0.17	0.91±0.36	0.90±0.26	0.91±0.27	0.94±0.18	0.76±0.20
TC/(mmol/L)	1.52±0.33	1.96±0.46	1.76±0.28	2.10±0.60*	1.61±0.29	1.71±0.26	1.61±0.34	1.66±0.21
TP/(g/L)	67±7	73±6	70±5	72±7	63±3	61±5	61±3	61±2
ALB/(g/L)	36.8±3.8	40.4±3.1	38.7±3.2	39.6±3.0	32.5±1.4	31.7±1.8	32.0±1.0	32.2±0.8
UN/(mmol/L)	5.9±0.6	6.4±0.9	6.3±0.7	6.0±0.7	5.0±0.9	5.3±1.1	4.9±0.4	5.2±0.5
CRE/(μmol/L)	33±5	36±5	34±3	32±3	27±2	28±4	26±2	27±1

注: *表示 $P<0.05$, 下同。

表 7 30 d 喂养试验大鼠主要脏器湿重和脏体比($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 7 Cardinal organs weights, organ/body weight ratios of rats in 30 days sub-acute toxicity test ($\bar{x} \pm s, n=10$)

项目	雌鼠				雄鼠			
	0	1.15	2.30	4.60	0	1.15	2.30	4.60
	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)	g/(kg·BW)
空腹体质量/g	228±11	228±19	221±4	224±11	342±26	353±16	354±18	338±19
肝/g	7.58±0.48	7.56±0.50	7.47±0.77	7.51±0.52	10.84±0.88	11.35±0.81	11.03±0.90	10.83±0.66
肝/体/%	3.33±0.23	3.33±0.28	3.38±0.32	3.36±0.17	3.17±0.14	3.22±0.14	3.12±0.21	3.20±0.10

表 7(续)

项目	雌鼠				雄鼠			
	0 g/(kg·BW)	1.15 g/(kg·BW)	2.30 g/(kg·BW)	4.60 g/(kg·BW)	0 g/(kg·BW)	1.15 g/(kg·BW)	2.30 g/(kg·BW)	4.60 g/(kg·BW)
脾/g	0.53±0.06	0.54±0.13	0.51±0.08	0.54±0.12	0.76±0.09	0.78±0.09	0.76±0.13	0.72±0.12
脾/体/%	0.23±0.03	0.24±0.07	0.23±0.03	0.24±0.06	0.22±0.03	0.22±0.03	0.22±0.03	0.21±0.04
肾/g	1.93±0.20	1.90±0.15	1.96±0.16	1.89±0.11	2.94±0.30	3.09±0.35	3.03±0.24	2.95±0.19
肾/体/%	0.85±0.07	0.84±0.09	0.88±0.07	0.85±0.07	0.86±0.04	0.88±0.08	0.86±0.09	0.87±0.03
睾丸/g	—	—	—	—	2.96±0.27	3.07±0.20	3.18±0.22	3.04±0.18
睾丸/体/%	—	—	—	—	0.86±0.05	0.87±0.05	0.90±0.07	0.90±0.06

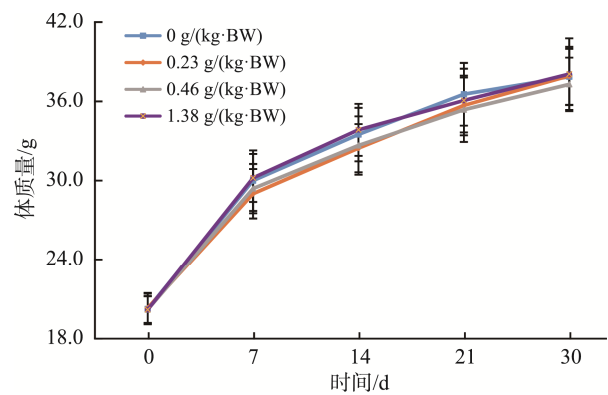


图 2 缓解体力疲劳试验雄性小鼠生长曲线(n=40)
Fig.2 Growth curves of male mice in alleviating physical fatigue test (n=40)

2.7 小鼠负重游泳时间、肝糖原、血清尿素氮和血乳酸含量

与溶剂对照组相比, 样品各剂量组小鼠肝糖原无显著性差异($P<0.05$), 肝糖原测定结果呈阴性; 0.46 g/(kg·BW)组小鼠负重游泳时间显著延长($P<0.01$), 负重游泳时间测定结果呈阳性; 游泳 90 min 后, 0.46、1.38 g/(kg·BW)组小鼠血清尿素氮值显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 血清尿素氮测定结果呈阳性; 0.46 g/(kg·BW)组小鼠运动前后 3 个时间点血乳酸曲线下面积显著减少($P<0.01$), 乳酸测定结果呈阳性。研究表明: 该样品能显著延长小鼠负重游泳时间, 降低血清尿素氮含量, 提升小鼠血乳酸清除效率。见表 8。

表 8 小鼠负重游泳时间以及肝糖原、血清尿素氮和血乳酸含量($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	负重游泳 时间/s	肝糖原 (mg/g)	UN (mmol/L)	血乳酸/(mmol/L)			
				基础值	游泳后 0 min	游泳后 20 min	血乳酸曲线 下面积
0 g/(kg·BW)	469±108	22.22±2.79	12.85±1.57	1.90±0.93	2.78±1.06	0.95±0.29	60.6±15.1
0.23 g/(kg·BW)	547±120	21.08±3.77	11.73±1.33	1.10±0.30	2.65±0.55	0.93±0.18	54.6±8.7
0.46 g/(kg·BW)	632±142**	20.08±5.35	11.38±0.75*	1.13±0.57	2.04±0.51	1.09±0.25	47.1±7.0**
1.38 g/(kg·BW)	578±131	20.10±3.70	10.61±1.70**	1.14±0.72	2.54±0.34	1.14±0.31	55.1±8.5

注: 血乳酸曲线下面积=5×(游泳前血乳酸值+3×游泳后 0 min 的血乳酸值+2×游泳后休息 20 min 的血乳酸值)。

3 讨论与结论

该产品成人推荐摄入量为 2.76 g/(人·d), 根据产品配方, 相当于摄入刺五加、肉苁蓉、西洋参、丹参生药 5.43、3.27、2.16、2.16 g/(人·d), 均低于《中华人民共和国药典(2020 年版)》对其使用限量的规定^[8]。肉苁蓉的摄入剂量超过 2018 年国家卫生行政部门征求拟将其增补于“既是食品又是中药材物质名单”并限定其食用量≤3 g/(人·d)的意见^[14]。不过, 在 2019 年国家卫生行政部门和市场监管部门联合发布食药物质管理试点的通知中, 删除了对肉苁蓉食用量的限定标准^[15]。因此, 该产品配方符合国家现行的有关规定。大量的研究已证实刺五加、肉苁蓉、西洋参、丹参的食用安全性^[20-23], 及其在缓解体力疲劳方面的生理功效^[24-28]。

本研究对上述 4 种原料配伍制备的复方刺五加片的毒理学及功效学进行了研究, 结果表明: 该样品对不同性别小鼠、大鼠体质量增加均未见明显影响; 对雌、雄 ICR 小鼠急性经口毒性 MTD 值均>15.00 g/(kg·BW), 为无毒级, 相当于成人每日推荐摄入量的 326 倍, 满足保健食品“半数致死量 (median lethal dose, LD₅₀) 值≥人可能摄入量的 100 倍”和“动物未出现死亡的剂量≥10.00 g/(kg·BW)”的要求; 在最高剂量分别达到 5000 μg/皿、10.00 g/(kg·BW)的条件下, 未检出该样品对鼠伤寒沙门氏菌 DNA、或雌、雄 ICR 小鼠体细胞以及雄性 ICR 小鼠生殖细胞的致突变作用; 以 4.60 g/(kg·BW)为最高剂量进行 30 d 喂养试验, 未发现该样品对雌、雄 SD 大鼠生长、活动、摄食量、食物利用率、血液生理生化指标以及主要组织器官的毒理学病理学效应, 其对雌、雄 SD 大鼠的 30 d

经口毒性未观察到有害作用的水平(no observed adverse effect level, NOAEL)分别为 5.29、5.14 g/(kg·BW), 分别相当于 0.046 g/(kg·BW)推荐摄入量的 115 和 112 倍; 以 1.38 g/(kg·BW)为最高剂量进行缓解体力疲劳功效试验, 该样品负重游泳、血清尿素氮和血乳酸的试验检测结果均为阳性。研究结果与徐杰等^[29]和闫翠敏等^[30]以刺五加、肉苁蓉为主要原料开发保健食品所开展的小鼠缓解体力疲劳试验结果相一致。其缓解体力疲劳功效可能与该复方刺五加片所含的刺五加苷 E (eleutheroside E)、人参皂苷(ginsenoside)、丹参酮 IIA (tanshinone IIA)、松果菊苷和毛蕊花糖苷等功效成分的抗氧化活性及改善骨骼肌细胞线粒体功能有关^[31-35], 详细的分子机制有待进一步深入研究。

该复方刺五加片配方设计及推荐服用剂量符合我国保健食品原料毒理学安全性及配伍科学性的相关规定, 其食用安全性及缓解体力疲劳动物功效满足《保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)》的技术要求。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家市场监督管理总局. 关于公开征求《关于发布允许保健食品声称的保健功能目录非营养素补充剂(2022 年版)及配套文件的公告(征求意见稿)》意见的公告[EB/OL]. [2022-01-12]. https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202201/t20220113_339092.html [2022-01-24].
State Administration for Market Regulation of the People's Republic of China. Notice on publicly request for opinions on issuing non-nutrient supplements (2022 Edition) and supporting documents for health function catalogues allowing health foods to claim [EB/OL]. [2022-01-12]. https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202201/t20220113_339092.html [2022-01-24].
- [2] DIAS NC, MARINHO NP, BARBALHO SM, *et al.* Medicinal plants in physical exercise: A review [J]. *Eur J Med Plants*, 2021, 32(1): 1-21.
- [3] 中国科学院. 植物科学数据中心[DB/OL]. <https://www.plantplus.cn/cn/sp/%E5%88%BA%E4%BA%94%E5%8A%A0> [2022-01-24].
Chinese Academy of Sciences. Plant Science Data Center [DB/OL]. <https://www.plantplus.cn/cn/sp/%E5%88%BA%E4%BA%94%E5%8A%A0> [2022-01-24].
- [4] 刘金文, 孔繁东, 刘兆芳, 等. 刺五加的研究与开发应用[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(12): 143-145.
LIU JW, KONG FD, LIU ZF, *et al.* Research and development applications of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Food Res Dev*, 2015, 36(12): 143-145.
- [5] 国家药典委员会, 中国医学科学院药用植物研究所. 中华人民共和国药典中药材及原植物彩色图鉴(上、下册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
Chinese Pharmacopoeia Commission, Institute of Medicinal Plant Development Chinese Academy of Medical Sciences. A colored identification atlas of Chinese medicinal materials and plants as specified in the pharmacopoeia of the People's Republic of China (Vol. I&II) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010.
- [6] 冯朵, 段昊, 吕燕妮, 等. 肉苁蓉在我国保健食品中的应用[J]. *食品科技*, 2021, 46(12): 76-81.
FENG D, DUAN H, LV YN, *et al.* Application of *Cistanche deserticola* Ma in functional food in China [J]. *Food Sci Technol*, 2021, 46(12): 76-81.
- [7] 南京中医药大学. 中药大辞典(上、下册)(第二版)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
Nanjing University of Chinese Medicine. Dictionary of Chinese medicine (Vol. I&II) (second edition) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2006.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 年版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2020 edition) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [9] JIA QQ, ZHU RY, TIAN YM, *et al.* *Salvia miltiorrhiza* in diabetes: A review of its pharmacology, phytochemistry, and safety [J]. *Phytomedicine*, 2019, 58: 152871.
- [10] 万新焕, 王瑜亮, 周长征, 等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展[J]. *中草药*, 2020, 51(3): 788-798.
WAN XH, WANG YL, ZHOU CZ, *et al.* Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Salviamiltiorrhiza* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(3): 788-798.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 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) [EB/OL]. [2002-02-28]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219cdc4.shtml> [2022-01-24].
Ministry of Health of the People's Republic of China. Notice on further standardized raw material management of health food (Health Law Supervision and Development [2002]51) [EB/OL]. [2002-02-28]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219cdc4.shtml> [2022-01-24].
- [12] WANG T, ZHANG XY, XIE WY. *Cistanche deserticola* Y. C. Ma, "desert ginseng": A review [J]. *Am J Chin Med*, 2012, 40(6): 1123-1141.
- [13] 中华人民共和国卫生部. 关于限制以甘草、麻黄草、苁蓉和雪莲及其产品原料生产保健食品的通知(卫法监发[2001]188 号)[EB/OL]. [2001-07-05]. <http://www.foodcta.com/spfg/detail13108.html> [2022-01-24].
Ministry of Health of the People's Republic of China. Notice on restricting the production of health food from *Liquorice*, *Ephedra Sinica*, *Cistanche deserticola*, *Saussurea involucreata* and their products (Health Law Supervision and Development [2001]188) [EB/OL]. [2001-07-05]. <http://www.foodcta.com/spfg/detail13108.html> [2022-01-24].
- [14] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于征求将党参等 9 种物质作为按照传统既是食品又是中药材物质管理意见的函(国卫办食品函[2018]278 号)[EB/OL]. [2018-04-24]. <http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk.htm?id=3bcf8b4d12e34b11bfc6e5404b6e74a3> [2022-01-24].
National Health Commission of the People's Republic of China. Letter on request for opinions on management of nine substances such as *Codonopsis pilosula* in accordance with traditional as homologues of food and traditional Chinese medicinal herbs (National Health Office Food Letter [2018] 278) [EB/OL]. [2018-04-24]. <http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk.htm?id=3bcf8b4d12e34b11bfc6e5404b6e74a3> [2022-01-24].
- [15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于对党参等 9 种物质开展按照传统既是食品又是中药材的物质管理试点工作的通知(国卫办食品函[2019]311 号)[EB/OL]. [2019-11-25]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/>

- s7885/202001/1ec2cca04146450d9b14acc2499d854f. shtml [2022-01-24]. National Health Commission of the People's Republic of China. Notice on the pilot management of nine substances such as *Codonopsis pilosula* in accordance with traditional as homologues of food and traditional Chinese medicinal herbs (National Health Office Food Letter [2019] 311) [EB/OL]. [2019-11-25]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7885/202001/1ec2cca04146450d9b14acc2499d854f.shtml> [2022-01-24].
- [16] 中华人民共和国国家市场监督管理总局. 特殊食品信息查询平台 [DB/OL]. <http://ypzxs.gsxt.gov.cn/specialfood/#/food> [2022-01-24]. State Administration for Market Regulation of the People's Republic of China. National information inquiry platform of special food [DB/OL]. [2022-01-24]. <http://ypzxs.gsxt.gov.cn/specialfood/#/food> [2022-01-24].
- [17] 陈耿, 鹿奎奎, 刘协, 等. 复方芦荟口服液的毒理学安全性与通便功效研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(11): 3575–3584.
CHEN G, LU KK, LIU X, *et al.* Evaluation on toxicological safety and embellish aperient bowel function of compound *Aloevera* oral liquid [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(11): 3575–3584.
- [18] 陈耿, 刘协, 施伟庆, 等. *L*-阿拉伯糖大鼠 28 d 重复剂量经口毒性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(19): 7778–7786.
CHEN G, LIU X, SHI WQ, *et al.* Study on the *L*-arabinose 28 d repeated dose oral toxicity in rats [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(19): 7778–7786.
- [19] 陈耿, 张颖, 施伟庆, 等. SPF 级 SD 大鼠血液学指标 95% 参考区间的建立及性别差异探讨[J]. 江苏预防医学, 2019, 30(6): 614–616, 621.
CHEN G, ZHANG Y, SHI WQ, *et al.* The establishment of reference ranges with 95% confidence levels of hematological indexes of SPF grade SD rats and investigation of differences between genders [J]. Jiangsu J Prev Med, 2019, 30(6): 614–616, 621.
- [20] CHO ML, SHIN GH, KIM JM, *et al.* Acute and subchronic (13-week) toxicity of fermented *Acanthopanax koreanum* extracts in Sprague Dawley rats [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2016, 77: 93–99.
- [21] GAO YQ, QIN GQ, WEN PJ, *et al.* Safety assessment of powdered *Cistanche deserticola* Y. C. Ma by a 90-day feeding test in Sprague-Dawley rats [J]. Drug Chem Toxicol, 2017, 40(4): 383–389.
- [22] Food and Drug Administration. GRN No.36. Chromium picolinate; *Ginkgo biloba* leaf extract; and ginseng extract [EB/OL]. [2000-01-03]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=36> [2022-01-24].
- [23] WANG M, LIU J, ZHOU B, *et al.* Acute and sub-chronic toxicity studies of Danshen injection in Sprague-Dawley rats [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141(1): 96–103.
- [24] HUANG LZ, HUANG BK, YE Q, *et al.* Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of *Acanthopanax senticosus* [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(1): 213–219.
- [25] HUANG LZ, HUANG BK, LIANG J, *et al.* Antifatigue activity of the liposoluble fraction from *Acanthopanax senticosus* [J]. Phytother Res, 2011, 25(6): 940–943.
- [26] CAI RL, YANG MH, SHI Y, *et al.* Antifatigue activity of phenylethanoid-rich extract from *Cistanche deserticola* [J]. Phytother Res, 2010, 24(2): 313–315.
- [27] ARRINGTON NM, MILLSTINE D, MARKS LA, *et al.* Ginseng as a treatment for fatigue: A systematic review [J]. J Altern Complement Med, 2018, 24(7): 624–633.
- [28] LIN CY, JHANG YS, LAI SC, *et al.* Antifatigue properties of tanshinone IIA in mice subjected to the forced swimming test [J]. Pharm Biol, 2017, 55(1): 2264–2269.
- [29] 徐杰, 姜文月, 齐美欣, 等. 复方刺五加片缓解体力疲劳作用的量效关系和时效关系[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(7): 3638–3641.
XU J, JIANG WY, QI MX, *et al.* Dose-effect relationship and time-effect relationship of Fufang Ciwujia tablets in alleviating physical fatigue [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(7): 3638–3641.
- [30] 闫翠敏, 张亚安, 傅岩, 等. 复方管花肉苁蓉片缓解小鼠运动疲劳的作用研究[J]. 化工时刊, 2020, 34(1): 8–12.
YAN CM, ZHANG YAN, FU Y, *et al.* Evaluating anti-fatigue effect of compound *Cistanche tubulosa* tablets with male mice [J]. Chem Ind Times, 2020, 34(1): 8–12.
- [31] LUO CH, XU XR, WEI XC, *et al.* Natural medicines for the treatment of fatigue: Bioactive components, pharmacology, and mechanisms [J]. Pharmacol Res, 2019, 148: 104409.
- [32] LI XJ, TANG SQ, HUANG H, *et al.* *Acanthopanax henryi*: Review of botany, phytochemistry and pharmacology [J]. Molecules, 2021, 26(8): 2215.
- [33] HUANG LZ, ZHAO HF, HUANG BK, *et al.* *Acanthopanax senticosus*: Review of botany, chemistry and pharmacology [J]. Pharmazie, 2011, 66(2): 83–97.
- [34] TIAN M, LI LN, ZHENG RR, *et al.* Advances on hormone-like activity of *Panax ginseng* and ginsenosides [J]. Chin J Nat Med, 2020, 18(7): 526–535.
- [35] LI D, REN JW, ZHANG T, *et al.* Anti-fatigue effects of small-molecule oligopeptides isolated from *Panax quinquefolium* L. in mice [J]. Food Funct, 2018, 9(8): 4266–4273.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



陈耿, 副研究员, 主要研究方向为保健食品功能与毒理学研究。
E-mail: cheng@jscdc.cn



陈东亚, 副主任技师, 主要研究方向为保健食品功能与毒理学研究。
E-mail: 70641911@qq.com



陈新霞, 副主任技师, 主要研究方向为保健食品功能与毒理学研究。
E-mail: 461207743@qq.com



奚清丽, 主任技师, 主要研究方向为保健食品功能与毒理学研究。
E-mail: 13913946652@163.com