

DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023437

引用格式:赵燕,赵保路.含L-精氨酸和抗氧化物质组方的毒理学安全性研究[J].食品与发酵工业,2020,46(6):108-113.
ZHAO Yan,ZHAO Baolu. Toxicological and safety research of a formula containing L-arginine and antioxidants[J]. Food and Fermentation Industries,2020,46(6):108-113.

含L-精氨酸和抗氧化物质组方的毒理学安全性研究

赵燕¹,赵保路^{2*}

1(哈尔滨工业大学(威海)生物工程系,山东威海,264209)2(中国科学院,生物物理研究所,北京,100101)

摘要 为探究含L-精氨酸和抗氧化物质组方的毒理学安全性,该文按照《保健食品检验与评价技术规范》(2003年版)重点开展了含L-精氨酸、山楂提取物、知母提取物和虾青素组方的毒理学评价。毒理实验显示,该组方小鼠经口急性毒性试验中最大耐受剂量值(maximum tolerance dose, MTD) > 20.0 g/(kg·BW),Ames试验、小鼠骨髓微核试验和小鼠精子畸形试验均未见该组方样品有致突变作用。大鼠30 d喂养试验各项指标也均未见明显毒性反应。该组方属于无毒级、无遗传毒性,不会引起突变,为其临床应用及保健食品研发提供毒理学方面的科学依据。

关键词 L-精氨酸;抗氧化物质;安全性;毒理学

Toxicological and safety research of a formula containing L-arginine and antioxidants

ZHAO Yan¹,ZHAO Baolu^{2*}

1 (Department of Bioengineering, Harbin Institute of Technology, Weihai 264209, China)

2 (Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

ABSTRACT In order to explore the toxicological safety of L-arginine and antioxidant formulations, this paper focused on the toxicological evaluation of L-arginine, hawthorn extract, anemarrhena extract and astaxanthin formulations in accordance with “The Technical Specification for Inspection and Evaluation of Health Food” (2003 edition). Toxicology studies showed that the maximum tolerance dose to mice of for the formula was more than 20.0 g/(kg·BW). The results of Ames test, mouse bone marrow micronucleus test and mice sperm abnormality test were negative. For the 30 days oral toxicity test, the parameters were in the range of normal value. No significant toxic effects were found for the formula in this study. The formula is non-toxic, non-genotoxic, and does not cause mutations. Provide the scientific basis of toxicology for its clinical application and health food research and development.

Key words L-arginine; antioxidants; safety; toxicology

L-精氨酸是一种非必需碱性氨基酸,主要来源于饮食、蛋白质降解和自身合成,在体内合成速度较慢,具有增强免疫力、保护胃黏膜、促进蛋白合成等生理功能^[1-3],但对于婴幼儿为必需氨基酸,可以起到一定的解毒作用。L-精氨酸增强免疫力的重要作用机制为精氨酸—一氧化氮(nitric oxide, NO)调控模式。L-精氨酸经一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase,

NOS)催化生成具有生物活性的NO。NO在生物体内承担着重要的生物功能,包括抗炎、降血压、舒张血管等^[4-7]。

天然抗氧化剂含有大量能清除过量自由基的抗氧化成分,如山楂提取物、知母提取物、虾青素等,具有辅助保护心血管、调节免疫、抗氧化、降血糖等功能^[8-9]。山楂提取物含有黄酮、原花青素、三萜酸等

第一作者:博士,教授(赵保路研究员为通讯作者,E-mail:zhaobl@sun5.ibp.ac.cn)

收稿日期:2020-01-20,改回日期:2020-02-14

抗氧化物质,具有保护心血管、抗氧化、抗炎等作用^[10],知母宁具有清热泻火,滋阴润燥,退热消炎,抑菌杀菌,降血糖等功能^[11-12]。虾青素属类胡萝卜素,是存在于鱼、虾和藻类中的一种强抗氧化剂,其抗氧化活性高于 β -胡萝卜素的10倍、 V_E 的100倍^[13]。

该研究重点开展了含L-精氨酸和抗氧化物质(山楂提取物、知母提取物和虾青素)组方的安全性毒理学评价,以期为其临床应用及保健食品研发提供毒理学方面的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

组方样品由L-精氨酸(L-Arg)、山楂提取物、知母提取物和虾青素为原料,按质量比1:1:2:2制成。敌克松(dexon),上海晶纯试剂有限公司;2-氨基苄,上海晶纯试剂有限公司;1,8-二羟基蒽醌, Sigma-Aldrich公司;美国胎牛血清,浙江天航科技有限公司;环磷酰胺, Sigma-Aldrich公司;Giemsa染料, sal-arbio公司;甲醇,天津市康科德技术有限公司;羧甲基纤维素钠,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

BP211D电子天平、BS323S电子天平、BSA42002S电子天平,德国Sartorius公司;BX51生物显微镜, Olympus公司;BSC-1360IIA2生物安全柜,北京中联哈尔仪器有限公司;ADVI2120i血液分析仪,西门子公司。

1.3 动物饲养和处理

SPF级雄性ICR小鼠、SD大鼠,济南朋悦实验动物繁育有限公司,饲养于屏障级动物房,温度20~26℃,相对湿度40%~70%,照明时间12 h。设毒理组和对照实验组,分溶剂对照组和样品低、中、高3个剂量组,每组10只动物。

1.4 剂量选择及受试物给予方式

1.4.1 急性毒性试验

L-精氨酸和天然抗氧化剂组方样品,按相当于人体剂量的750倍,即20.0 g/(kg·BW),连续经口灌胃14 d。记录动物中毒表现和死亡情况,试验结束后进行剖检并记录大体解剖结果。

1.4.2 Ames试验

设8、40、200、1 000和5 000 mg/皿,5个剂量,称取1.25 g样品,加灭菌注射用水至25 mL,混匀,在0.055 MPa条件下灭菌20 min,4℃保存,临用时,加灭菌注射用水按1:4体积比依次稀释成50 000(不

稀释)、10 000、2 000、400、80 mg/mL,试验时,每皿加入各个试剂组样品0.1 mL。

1.4.3 骨髓细胞微核试验

试验设样品组、溶剂对照组和阳性对照组,L-精氨酸和天然抗氧化剂组方样品组按低、中、高3个剂量,分别为2.5、5.0和10.0 g/(kg·BW),用5 g/L羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na)溶液配制成0.125、0.25和0.5 g/mL混悬液。阳性对照组经灌胃给予2.0 mg/mL的环磷酰胺溶液,总剂量为40.0 mg/(kg·BW)。溶剂对照组给予0.5% CMC-Na溶液。经口灌胃容积均为20 mL/(kg·BW)。

1.4.4 小鼠精子畸形试验

试验设样品组、溶剂对照组和阳性对照组,L-精氨酸和天然抗氧化剂组方样品组按低、中、高3个剂量,分别为2.5、5.0和10.0 g/(kg·BW),用5 g/L CMC-Na溶液配制成0.125、0.25和0.5 g/mL混悬液。阳性对照组经灌胃给予2.0 mg/mL的环磷酰胺溶液,总剂量为40.0 mg/(kg·BW)。溶剂对照组给予5 g/L CMC-Na溶液。经口灌胃,给予容积均为20 mL/(kg·BW)。连续给予5 d,首次给予后第35天处死小鼠。

1.4.5 大鼠喂养试验

30 d喂养SD大鼠组方样品,以0.67、1.33和2.67 g/(kg·BW)(相当人体推荐量的25、50和100倍)3个剂量掺入饲料,大鼠摄入饲养量按10 g/(100 g·BW)计,掺入质量分数分别为0.67%、1.33%和2.67%,采用逐级放大法将样品掺入饲料中。空白对照组喂食不添加组方样品的普通饲料。

1.5 实验方法

1.5.1 急性毒性试验

小鼠检疫合格后,取试验小鼠20只,雌雄各半,禁食不禁水16 h后,经灌胃给予质量浓度为0.5 g/mL试验样品20 mL/(kg·BW),1 d内给予2次,2次间隔时间4 h,每天观察1次,观察14 d,记录动物中毒表现及死亡情况。试验结束后进行剖检并记录大体解剖结果。

1.5.2 Ames试验

采用平板掺入法,将冷冻保存的实验菌株TA97、TA98、TA100、TA102分别接种于营养肉汤培养基10 mL,37℃振荡(100次/min)培养10 h。将含组氨酸(0.5 mmol/L)、生物素(0.5 mmol/L)的顶层培养基2 mL分装于试管中,50℃水浴保温,然后每管依

次加入 0.1 mL 实验菌株液,0.1 mL 样品溶液和 S9 混合液 0.5 mL(需代谢活化时),充分混匀,迅速倾入底层琼脂板上,转动平板,使之分布均匀。水平放置待凝固固化后,倒置于 37 ℃ 培养箱孵育 48 h,计数每皿回变菌落数。每个剂量均做 3 个平行板,同时设空白对照组、溶剂对照组和阳性对照组。

1.5.3 小鼠骨髓细胞微核试验

采用 ICR 小鼠 50 只,雌雄各半,雄性体重 25.68 ~ 28.91 g,雌性体重 26.24 ~ 29.12 g。实验设置对照组和阳性对照组。样品组设低、中、高 3 个剂量,经口灌胃,采用 30 h/2 次给予法,2 次间隔 24 h,第 2 次给予后 6 h 取材。首末给予均称动物重量并记录。动物颈椎脱臼法处死小鼠,取胸骨,用止血钳挤出骨髓液与载玻片一端的胎牛血清混匀,常规涂片。空气干燥后,用甲醇固定 10 min。将固定好的涂片放入 Giemsa 应用液中,染色 10 min,用水轻轻冲洗,凉干。在光学显微镜下,观察 200 个嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE),同时计数正染红细胞(normochromatic erythrocyte, NCE),计算观察 PCE/NCE 比值,每只动物计数 1 000 个嗜多染红细胞。观察含有微核的嗜多染红细胞数,微核率以千分率表示。

1.5.4 小鼠精子畸形试验

采用 ICR 小鼠 25 只,雄性,体重 25.68 ~ 28.91 g。实验设置对照组和阳性对照组。样品组设低、中、高 3 个剂量,经口灌胃,连续给予 5 d,首次给予后第 35 d 处死小鼠。颈椎脱臼法处死小鼠,取出两侧附睾,放入盛有约 1 mL 生理盐水的小烧杯中,用眼科剪纵向剪 1 ~ 2 刀,静止 3 min,轻轻摇动。用 4 层擦镜纸过滤,滤液涂片。空气干燥后,用甲醇固定 5 min,晾干后用 1% 伊红染色 1 h,用水轻轻冲洗,干燥。用低倍镜下找到背景清晰,精子重叠较少的部位,用高倍镜检查精子的形态。精子畸形按照无钩、香蕉形、胖头、无定型、双头、双尾、尾折叠进行记录。每只动物检查 1000 个精子。记录畸变的类型和数量,计算精子畸形率。

1.5.5 大鼠喂养试验

检疫合格后,取试验动物 L-精氨酸和天然抗氧化剂组方对人体推荐量为 1.6 g/60 (kg · BW)。动物受试物毒理实验剂量按人体推荐的 25、50 和 100 倍 3 个剂量掺入饲料,饲喂 SD 大鼠 30 d。第 31 天后,在禁食 16 h 称重。腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,处死动物,取肝、脾、肾、睾丸、卵巢等脏器和胸腺称重,计算脏/体比值;将肝、脾、肾、睾丸、卵巢等脏器固定

保存好,并进行病理检查。取血进行血液指标测定包括血红蛋白(hemoglobin, HGB)浓度、红细胞(red blood cell, RBC)数、白细胞(white blood cell, WBC)数、嗜中性粒细胞(neutrophils, NEU)百分率、淋巴细胞(lymphocyte, LYM)百分率、单核细胞(monocyte, MONO)百分率、酸性粒细胞(eosinophil, EOS)百分率和嗜碱性粒细胞(basophils, BASO)百分率;以血清生化指标测定包括谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、血糖(glucose, GLU)、肌酐(creatinine, CREA)、尿素(urea, UREA)、总胆固醇(total cholesterol, TCHO)和甘油三酯(triglyceride, TG)。

1.6 统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件以 X^2 检验进行数据处理, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

1.7 评价标准

根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年版)^[14],每个剂量组与溶剂对照组分别进行比较,畸变率为溶剂对照组的 2 倍及以上有统计学差异,并有剂量反应关系,可判断为实验结果阳性。

2 结果与分析

2.1 小鼠急性毒性试验

小鼠在观察期内未出现死亡及中毒状况,该组方样品急性经口小鼠试验最大耐受剂量(maximum tolerated doses, MTD)均 > 20.0 g/(kg · BW)(表 1),结果显示该组方属无毒级。

表 1 急性毒性实验结果

Table 1 Results of the acute toxicity test

性别	剂量/ [g · (kg · BW) ⁻¹]	动物数/ 只	体重/g		动物死亡 数/只	MTD/ [g · (kg · BW) ⁻¹]
			初始	末期		
雄性	20.0	10	19.24 ± 0.61	32.86 ± 0.92	0	>20.0
雌性	20.0	10	19.62 ± 0.64	29.75 ± 0.95	0	>20.0

注:表中结果 $n = 10$, $\bar{x} \pm s$ (下同)

2.2 Ames 试验

如表 2 所示,2 次试验中组方各剂量在加和不加 S_9 条件下各菌株回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍,各剂量组间亦无剂量反应关系。因此,在加和不加 S_9 的条件下,组方对鼠伤寒沙门氏菌 TA97、TA98、TA100、TA102 共 4 株菌株均未呈现遗传毒性;即在本试验条件下,在加与不加代谢活化系统的情况下,该组方对鼠伤寒沙门氏菌为致突变阴性。

表 2 Ames 试验结果
Table 2 Results of Ames test

组别	剂量/($\mu\text{g} \cdot \text{皿}^{-1}$)	TA97		TA98		TA100		TA102	
		+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉
样品	5 000	131 ± 13	105 ± 12	31 ± 6	29 ± 2	139 ± 6	139 ± 8	276 ± 8	269 ± 10
	1 000	136 ± 13	123 ± 12	34 ± 5	34 ± 4	145 ± 14	147 ± 10	279 ± 15	276 ± 12
	200	142 ± 11	129 ± 11	35 ± 6	31 ± 2	150 ± 5	142 ± 12	289 ± 14	283 ± 11
	40	139 ± 9	125 ± 13	34 ± 4	32 ± 2	142 ± 14	147 ± 7	283 ± 14	288 ± 16
	8	135 ± 10	131 ± 9	36 ± 4	33 ± 2	148 ± 6	144 ± 8	295 ± 14	284 ± 11
溶剂对照	-	128 ± 6	118 ± 7	35 ± 2	32 ± 3	142 ± 10	140 ± 11	281 ± 4	283 ± 7
空白对照	-	132 ± 6	121 ± 7	37 ± 3	31 ± 5	141 ± 6	139 ± 9	279 ± 6	274 ± 8
阳性对照	2-氨基芴(10)	2 016 ± 99	-	2 403 ± 62	-	1 045 ± 112	-	-	-
	1,8-二羟基蒽醌(50)	-	-	-	-	-	-	933 ± 81	-
	敌克松(50)	-	2 192 ± 254	-	2 445 ± 85	-	996 ± 46	-	-
	MMC(0.5)	-	-	-	-	-	-	-	1 847 ± 70

注：- 表示无(下同)

2.3 小鼠骨髓细胞微核试验

如表 3 所示,组方各剂量 PCE/NCE 比值未少于溶剂对照组的 20%,表明该组方在实验剂量下无细胞毒性。环磷酰胺阳性对照组与溶剂对照组相比,微

核率有较显著性差异($P < 0.01$),而组方各剂量组微核率与溶剂对照组相比无显著性差异($P > 0.05$)。因此,在该实验条件下,该组方不会引起小鼠的骨髓嗜多染红细胞突变作用。

表 3 骨髓细胞微核试验结果
Table 3 Results of micronucleus rate in bone marrow

性别	剂量/[$\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{BW})^{-1}$]	动物数/只	检查细胞数/个	微核数/个	微核率/%	PCE/NCE
雄性	0	5	5 000	17	3.40 ± 1.34	1.28 ± 0.05
	40(环磷酰胺)	5	5 000	87	17.46 ± 5.22 **	1.04 ± 0.09
	2 500	5	5 000	14	2.80 ± 1.30	1.33 ± 0.08
	5 000	5	5 000	12	2.40 ± 0.55	1.29 ± 0.09
	10 000	5	5 000	12	2.40 ± 0.89	1.33 ± 0.10
雌性	0	5	5 000	13	2.60 ± 1.52	1.29 ± 0.11
	40(环磷酰胺)	5	5 000	85	17.00 ± 5.96 **	1.08 ± 0.07
	2 500	5	5 000	14	2.80 ± 1.30	1.34 ± 0.09
	5 000	5	5 000	13	2.60 ± 1.82	1.34 ± 0.09
	10 000	5	5 000	12	2.40 ± 1.14	1.28 ± 0.06

注：** 表示与溶剂对照组比较, $P < 0.01$ (双侧 t 检验)(下同)

2.4 小鼠精子畸形试验

如表 4 所示,组方各剂量组小鼠精子畸形率与溶剂对照组相比,无显著性差异($P > 0.05$)。环磷酰胺

阳性对照组与溶剂对照组相比,有较显著性差异($P < 0.01$),因此,在该实验条件下,该组方对小鼠精子畸形试验结果为阴性。

表 4 小鼠精子畸形试验结果
Table 4 Results of sperm abnormality test in mice

剂量/ [$\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{BW})^{-1}$]	动物数/只	精子数/个	精子畸形							合计	畸形率/%
			无钩	香蕉形	胖头	无定型	尾折叠	双头	双尾		
0	5	5 000	4	0	2	52	20	0	0	78	1.56 ± 0.44
40(环磷酰胺)	5	5 000	31	2	22	286	30	1	1	373	7.46 ± 0.51 **
2 500	5	5 000	6	0	2	51	7	0	0	66	1.32 ± 0.18
5 000	5	5 000	5	0	2	48	4	0	0	59	1.18 ± 0.23
10 000	5	5 000	3	0	2	47	5	0	0	57	1.14 ± 0.19

2.5 大鼠 30 d 喂养试验

L-精氨酸和天然抗氧化剂组方按人体推荐量的 25、50 和 100 倍 3 个剂量掺入饲料,饲喂 SD 大鼠

30 d,未发现与对照有显著改变。30 d 后处死动物,取肝、脾、肾、睾丸、卵巢等脏器和胸腺称重。如表 5 和表 6 所示,3 个剂量组动物的体重以及脏器/体重

比值与对照组动物相比均无显著性差异。对肝、脾、肾、睾丸和卵巢等脏器进行病理检查也未发现显著的病理变化。对血液学检查结果和血清生化指标检查结果如表 7 和表 8 所示。与对照组比较,血清生化可见雄性动物低、高剂量组 ALB 显著降低, $P<0.01$ 和 $P<0.05$;可见雄性动物低、中、高剂量组 CREA 显著降低, $P<0.01$;可见雌性动物低、高剂量组 ALB 显著降低, $P<0.01$ 和 $P<0.05$;上述指标均在本单位正常值范围内,可认为不存在生物学意义。其他各项指标均与对照组没有明显不同。综上,该组方喂养 30 d 各项观察指标未见明显毒性作用。

表 5 大鼠体重						
Table 5 Body weight of the mice						
性别	剂量/ [mg·(kg·BW) ⁻¹]	第 0 周/g	第 1 周/g	第 2 周/g	第 3 周/g	末期/g
雄性	0	75.04 ± 4.78	135.50 ± 8.73	200.20 ± 16.37	253.56 ± 23.00	301.32 ± 31.93
	0.67	76.05 ± 4.27	140.16 ± 13.76	202.82 ± 13.54	255.44 ± 18.03	303.80 ± 23.98
	1.33	76.34 ± 4.55	141.88 ± 6.64	207.20 ± 7.90	261.26 ± 12.76	307.92 ± 22.73
	2.67	76.38 ± 4.01	140.98 ± 6.25	199.46 ± 9.89	248.75 ± 11.93	293.74 ± 15.07
雌性	0	71.51 ± 5.30	124.54 ± 3.74	164.35 ± 10.14	185.35 ± 9.36	212.57 ± 11.98
	0.67	76.41 ± 5.41	131.24 ± 8.43	164.55 ± 10.69	188.97 ± 11.10	213.37 ± 10.74
	1.33	76.03 ± 5.36	128.69 ± 6.81	162.11 ± 12.82	184.12 ± 18.14	211.77 ± 14.47
	2.67	76.02 ± 5.77	130.13 ± 6.60	169.98 ± 11.34	187.15 ± 12.98	213.73 ± 12.08

表 6 大鼠脏器/体重比值					
Table 6 Organ/body weight of the mice					
性别	剂量/ [mg·(kg·BW) ⁻¹]	肝/体/%	肾/体/%	脾/体/%	辜/体/%
雄性	0	3.25±0.22	0.89±0.06	0.25±0.03	0.99±0.12
	0.67	3.20±0.34	0.84±0.07	0.24±0.04	0.99±0.10
	1.33	3.42±0.36	0.91±0.10	0.28±0.04	1.02±0.11
	2.67	3.03±0.32	0.84±0.07	0.27±0.06	0.96±0.10
雌性	0	3.31±0.19	0.90±0.08	0.25±0.04	-
	0.67	3.04±0.51	0.83±0.13	0.27±0.07	-
	1.33	3.29±0.28	0.89±0.12	0.27±0.03	-
	2.67	3.10±0.52	0.81±0.14	0.25±0.04	-

3 讨论

L-精氨酸具有调节免疫、促进蛋白质合成、保护胃黏膜等多种独特的生理和药理功能,在临床营养治疗中发挥着重要作用^[1-3]。山楂提取物、知母提取物、虾青素等天然抗氧化剂,含有大量能清除过量自由基的抗氧化成分,具有辅助保护心血管、降血压、降血脂、降血糖以及抑制神经退行性疾病等功能^[15-16]。

本组方由 *L*-精氨酸和天然抗氧化物质(山楂提取物、知母提取物和虾青素)组成,本实验按《保健食

表 7 大鼠血液学检查结果									
Table 7 Results of hematological indices in mice									
性别	剂量/ [mg·(kg·BW) ⁻¹]	RBC/ (10 ¹² ·L ⁻¹)	HGB/ (g·L ⁻¹)	WBC/ (10 ⁹ ·L ⁻¹)	NEU/%	LYM/%	MONO/%	EOS/%	BASO/%
雄性	0	7.25±0.37	146.40±5.60	6.99±1.50	8.40±2.30	88.67±2.90	1.20±0.52	0.84±0.67	0.23±0.07
	0.67	7.21±0.34	146.40±6.02	6.81±1.14	8.72±2.41	88.32±2.41	1.50±0.46	0.58±0.20	0.23±0.08
	1.33	6.94±0.53	141.00±8.45	6.02±2.18	11.04±3.45	84.93±4.59	1.85±0.82	1.25±1.50	0.25±0.11
	2.67	7.14±0.48	140.60±8.98	5.81±2.65	9.29±2.35	87.44±2.48	1.63±0.62	0.84±0.31	0.22±0.11
雌性	0	7.15±0.33	140.10±4.56	3.87±0.51	10.41±3.70	84.96±3.44	1.46±0.66	1.32±0.54	0.12±0.06
	0.67	6.93±0.28	138.80±4.55	4.96±1.47	11.68±2.51	84.77±2.67	1.55±0.36	1.12±0.33	0.13±0.07
	1.33	7.27±0.35	142.10±4.95	3.93±0.78	11.69±3.89	84.78±4.00	1.34±0.30	1.63±0.60	0.07±0.07
	2.67	7.08±0.38	140.00±5.35	4.11±1.26	10.28±2.49	86.40±2.72	1.21±0.55	1.27±0.25	0.15±0.07

表 8 大鼠血清生化指标检查结果										
Table 8 Results of serum biochemical indices in mice										
性别	剂量/ [mg·(kg·BW) ⁻¹]	ATL/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	CREA/ (μmol·L ⁻¹)	UREA/ (mmol·L ⁻¹)	TCHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)
雄性	0	33.60±5.50	142.80±31.37	58.47±2.96	33.79±1.32	6.85±0.83	19.80±2.30	6.13±1.39	1.77±0.24	0.69±0.23
	0.67	31.90±4.23	145.10±30.41	55.22±2.49	31.53±0.98 **	6.22±0.60	10.30±2.00 **	6.37±0.76	1.72±0.32	0.69±0.18
	1.33	32.20±4.42	142.10±39.50	57.33±2.95	32.91±1.41	6.08±0.98	10.50±2.17 **	5.76±1.09	1.70±0.34	0.68±0.26
	2.67	33.60±5.87	133.40±24.87	57.04±1.73	32.71±0.68 *	6.49±0.68	13.00±2.31 **	6.33±0.82	1.74±0.33	0.59±0.15
雌性	0	25.00±3.30	126.30±29.64	57.95±1.47	34.96±0.82	6.69±0.84	14.40±1.90	5.87±1.02	1.94±0.29	0.39±0.13
	0.67	24.90±4.15	128.40±19.97	55.72±3.47	33.19±1.92 **	6.52±0.40	15.10±1.85	6.16±0.93	1.84±0.30	0.40±0.08
	1.33	26.60±5.70	119.20±15.60	57.93±3.09	34.24±1.62	6.71±0.62	13.50±2.07	6.01±0.60	1.96±0.37	0.52±0.16
	2.67	24.40±3.34	114.20±17.43	55.78±1.95	33.30±1.12 *	6.36±0.64	14.80±2.53	6.10±1.17	1.91±0.29	0.45±0.13

品检验与评价技术规范》(2003 年版)对该组方的毒理学进行评价。研究结果显示,该组方对小鼠急性毒性试验中的 MTD 值 $> 20.0 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{BW})$,依据急性毒性分级标准,该组方属于无毒级。小鼠 Aems 试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠精子畸形试验均未发现该组方样品有致突变作用。按人体推荐量的 25、50 和 100 倍 3 个剂量,饲喂 SD 大鼠 30 d,各组动物生长发育良好,体重、脏器重量、脏器系数、血液学检查结果和血清生化指标等均未见异常。

综上,本实验结果表明该组方是安全的,为其进一步开发健康食品及药品提供了毒理学方面的科学依据。

参 考 文 献

- [1] GEIGER R, RIECKMANN J C, WOLF T, et al. *L*-arginine modulates T cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity [J]. *Cell*, 2016, 167(3):829–842.
- [2] XIONG L, TENG J L, BOTELHO M G, et al. Arginine metabolism in bacterial pathogenesis and cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3):363.
- [3] 欧阳暂,姜雅慧,张剑波,等.精氨酸强化的免疫营养支持对胃癌患者术后免疫功能影响的 Meta 分析[J]. *循证医学*, 2017, 17(6):350–360.
- [4] PALMER R M, FERRIGE A G, MONCADA S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 1987, 327(6 122): 524–526.
- [5] FURCHGOTT R F, VANHOUTTE P M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors[J]. *The FASEB J*, 1989, 3(9): 2 007–2 018.
- [6] 赵保路.一氧化氮自由基[M].北京:科学出版社,2008.
- [7] 赵保路.一氧化氮自由基生物学和医学[M].北京:科学出版社,2016.
- [8] SHEN G, LI M, XIN W J, et al. Effects of Chinonin on nitric oxide free radical, myocardial damage and arrhythmia in ischemia-reperfusion injury *in vivo*[J]. *Appl Magn Reson*, 2000, 19:9–19.
- [9] ZHANG D L, ZHANG Y T, YIN J J, et al. Oral administration of Crataegus extraction protects against ischemia/reperfusion brain damage in the Mongolian gerbils[J]. *J Neur Chem*, 2004, 90(1): 211–219.
- [10] WEIHMAIR T, EMST E. Therapeutic effectiveness of crataegus [J]. *For-schritte der Medizin*, 1996, 114(1–2): 27–29.
- [11] WALKER A F, MARAKIS G, MORRIS A P, et al, Promising hypotensive effect of hawthorn extract: A randomized double-blind pilot study of mild, essential hypertension [J]. *Phytotherapy Research*, 2002, 16(1): 48–54.
- [12] PETKOV E, NIKOLOV N, UZUNOV P. Inhibitory effect of some flavonoids and flavonoid mixtures on cyclic amp phosphodiesterase activity of rat heart[J]. *Planta Med*, 1981, 43(10):183–186.
- [13] HIGUERA-CIAPARA I, FELIX-VALENZUELA L, GOYCOOLEA F. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2006, 46(2):185–196.
- [14] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)[M].北京:中国标准出版社,2003.
- [15] SHEN J G, GUO X S, JIANG B, et al. Chinonin, a novel drug against cardiomyocyte apoptosis induced by hypoxia and reoxygenation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2 000(1 500):217–226.
- [16] CHEN M, ZHANG J, LI C, et al. Preventive and therapeutic effects of nitric oxide and natural antioxidants on Alzheimer's disease[J]. *Hans Journal of Food and Nutrition Science*, 2016, 5: 105–113.