

甘草抗氧灵的毒性研究

刘敏捷 钱毅春 王 莉
安秀伟 乌尼尔 侯永庆

内蒙古卫生防疫站 (010020)

甘草抗氧灵是从中药甘草中提取的天然油脂抗氧化剂,按照“食品毒理安全评价程序”的有关规定对其进行了三个阶段的毒理试验,并对甘草抗氧灵的有关卫生标准制定提出建议。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 甘草抗氧灵 棕红色粉末状固体,有甘草特有的气味,能溶于有机溶剂,不溶于水。由内蒙古东胜药厂提供,其主要抗氧化成分为3-(2',4'-二羟基苯基)-4-甲氧基-5-(3-甲基丁基)-6-羟基-香豆酮。

1.1.2 实验动物 试验用昆明种小鼠及Wistar—今道大鼠均由内蒙古大学实验动物中心提供,为二级清洁动物。

1.2 方法

1.2.1 急性毒性试验 选用体重200—300g大鼠16只,采用霍恩氏法的2.15系列,每组4只,雌雄各半。受试物以玉米油稀释后灌胃。

1.2.2 致突变试验 Ames试验使用TA₉₇、TA₉₈、TA₁₀₀、TA₁₀₂四个菌株,按常规方法进行试验,浓度为5000、500、50、0ug/皿, Dexon、2-AF为阳性对照物。

小鼠骨髓细胞微核试验 将体重25—30g小鼠60只随机分为六组,每组10只,雌雄各半,采用两次给以1/2、1/4、1/8、1/32 LD₅₀的甘草抗氧灵稀释液,同时设阴性

和阳性对照(CP:80mg/kg体重),常规法制片。

小鼠精子畸形试验 选用体重30g左右的雄性小鼠25只,随机分为五组,1/2、1/4、1/8 LD₅₀为实验组,另设阴性对照组(玉米油)和阳性组(CP:40mg/kg体重),经口连续灌胃5天,第35天取附睾制片。

1.2.3 亚慢性毒性试验

九十天喂养试验 选用体重40—80g的断乳大鼠80只,分四组,每组20只,雌雄各半。实验组剂量分别为1、0.1、0.01g/kg,阴性组喂基础饲料。每周测量体重及进食量,计算食物利用率,实验至60天时,尾静脉采血做血液学检查。实验结束时,内眦静脉采血进行生化指标测定。脱颈椎处死动物,称脏器重量,并对心、肝、脾、肺、肾、睾丸、卵巢等组织做大体及光镜检查。

喂养致畸及繁殖试验 两试验各采用80只断乳大鼠,每组20只,雌雄各半。实验组的剂量为1、0.1、0.01g/kg,每周根据体重调整给受试物量,阴性组喂基础饲料。至100天龄时,雌雄按1:1交配,以查到阴栓或精子为孕期“0”天。致畸试验的受精鼠于妊娠第二十天处死,进行胚胎发育及畸形检查。(阳性组于受孕后7—14天经口灌胃给予鱼肝油2.5万IU/100g体重)。繁殖试验的受精鼠令其自然分娩,主要观察交配受孕率、妊娠率及仔鼠出生存活率、哺育存活率。

2 结果

2.1 急性毒性试验 受试物 Ames 试验无论加与不加 S—9 混合液,结果均为阴性,见表 1;小鼠骨髓嗜多染红细胞核率经 poisson 检验,小鼠精子畸形率经 X^2 检验,实验各组与阴性组之间无显著性差异 ($P>0.05$),结果分别见表 2、表 3。

表 1 甘草抗氧灵 Ames 试验结果

剂量 (ug/ 皿)	TA ₉₇		TA ₉₈		TA ₁₀₀		TA ₁₀₂	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
0	101	161	15	18	178	134	315	337
50	77	119	19	11	119	120	180	249
500	55	114	14	12	139	153	206	248
5000	34	28	4	13	48	62	44	172
溶剂对照 Dexon (50ug/ 皿)	119	133	21	16	129	168	255	302
2— AF (100ug/ 皿)	>1000		531		>1000		>1000	

表 2 甘草抗氧灵对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率的影响

剂量组	PCE 数(个)	有核细胞数(个)	微核率(%)	P 值
0	10,000	12	1.2	
1/32LD ₅₀	10,000	12	1.2	>0.05
1/16LD ₅₀	10,000	12	1.2	>0.05
1/8 LD ₅₀	10,000	14	1.4	>0.05
1/4 LD ₅₀	10,000	7	0.7	>0.05
1/2 LD ₅₀	10,000	11	1.1	>0.05
CP	9,000	398	44.0	<0.01

上述结果表明甘草抗氧灵在本试验所采用的剂量范围内无致突变作用。

表 4 甘草抗氧灵对大鼠脏器比值的影响

剂量组 (g/kg)	动物数 (只)	肺/体 (%)	心/体 (%)	肝/体 (%)	肾/体 (%)	脾/体 (%)
1	8	0.70 ± 0.18	0.47 ± 0.05	3.87 ± 0.43	0.83 ± 0.07	0.24 ± 0.06
0.1	10	0.73 ± 0.22	0.50 ± 0.09	3.78 ± 0.29	0.87 ± 0.04	0.25 ± 0.07
0.01	10	0.70 ± 0.21	0.43 ± 0.11	3.96 ± 0.38	0.86 ± 0.11	0.27 ± 0.05
0	8	0.80 ± 0.27	0.45 ± 0.08	3.98 ± 0.06	0.89 ± 0.10	0.25 ± 0.05

2.3 喂养致畸试验 甘草抗氧灵对雌鼠受孕率仔鼠平均活胎数、活胎率、吸收胎率、

表 3 甘草抗氧灵对小鼠精子畸变的影响

组别	动物数 (只)	检查精子数 (个)	畸形精子数 (个)	畸形率 (%)	P 值
0	5	5,000	160	3.20	
1/8 LD ₅₀	5	5,000	108	2.16	>0.05
1/4 LD ₅₀	5	5,000	93	1.86	>0.05
1/2 LD ₅₀	5	5,000	153	3.06	>0.05
CP	5	5,000	387	7.74	<0.01

2.2 亚慢性毒性试验 在九十天喂养试验中,甘草抗氧灵对大鼠临床观察未见异常。血液学检查,实验组 RBC 值在 696.35—818.45 百万/mm³ 范围中,(对照组为 801.22);WBC 在 12845—15836 个/mm³ 范围之中,(对照组为 14413);Pt 范围在 12.92—14.03 万/mm³,(对照为 12.72);Hb 为 12.90—13.83g/dL,(对照为 13.37)。生化检查结果,实验各组 GPT 值在 35.15—50.32 赖氏单位,(对照为 47.47);尿素氮在 21.60—24.63mg/dL(对照为 24.93);二氧化碳结合力(CP CO₂) 在 46.37—52.64% 之间,(对照为 49.75%)。上述结果,实验组与对照组速均在正常值范围内。脏器比值结果见表 4,经 t 检验,实验各组与对照组相比均无显著性差异 ($P>0.05$)。高剂量组在实验期间,饲料摄入量、体重增长及食物利用率均低于对照组,但统计学无意义。各组大鼠脏器的大体检查及光镜检查未见异常。

死胎率以及胎鼠畸形率均未产生明显影响。实验各组与对照相比无显著性差异。但高、

中剂量组的平均身长及体重均低于阴性组 ($P < 0.01$), 结果见表5。

表5 甘草抗氧化对胎鼠体重及身长的影响

剂量组 (g/kg)	检查活胎数 (只)	平均体重 (g)	平均身长 (mm)
阴性组	31	2.59 ± 0.42**	34.30 ± 3.80**
1	70	4.04 ± 0.31**	38.04 ± 1.90**
0.1	78	3.91 ± 0.43**	37.63 ± 2.18**
0.01	76	4.21 ± 0.31	38.76 ± 1.69
0	75	4.19 ± 0.38	39.27 ± 1.99

2.4 繁殖试验结果 甘草抗氧化对母鼠受孕率、妊娠率未产生不良影响, 仔鼠出生存活率及哺育存活率实验各组与阴性组相比亦无明显差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

脂肪、油等在空气中自动氧化产生酸败的现象称为脂质过氧化。脂质过氧化不仅降低油脂及含油脂食品的营养价值, 而且与某些疾病癌症及衰老的发生发展有关^[1]。防止油脂氧化的方法之一是采用抗氧化剂。目前国内常用的抗氧化剂有BHA、BHT等。这些均为化学合成, 在安全性方面尚存在一定问题。因此, 寻找天然抗氧化剂是人们所期待的。日本才冢博雄等人首先从甘草中提出了油溶性抗氧化成分, 并制成制剂, 命各为“非氧化”^[2]但对其安全性方面的评价未见详细报道。

本试验对国内首次从甘草中提取的抗氧

剂进行了三个阶段的毒理学试验。在亚慢性试验中, 我们除选用一般指标外, 根据受试物抗氧化的特性, 选择了CO₂结合力这一特异指标, 旨在探讨动物较长时间食入抗氧化剂, 机体是否会因缺氧引起体内氧化不全生成大量固定酸而产生代谢性酸中毒, 导致体内酸碱平衡失调的可能性。实验结果表明: 大鼠经口LD₅₀ > 21.5g/kg 体重, 按急性毒性分级, 属无毒物。各项致突变试验未发现阳性结果。喂养致畸及繁殖实验表明, 该物质无致畸作用, 对大鼠生殖未产生不良影响。九十天试验中求得最大无作用剂量为0.1g/kg 体重, 但该剂量在致畸试验中对胎鼠体重、身长有一定影响。因而综合判断, MNL 定为0.01g/kg 更为安全, 外推到人设100倍安全系数, 建议每人每日允许摄入量(ADI) 为0.1mg/kg 体重。目前拟使用量为0.04mg/kg 体重, 低于建议的ADI值。

根据本研究结果, 可以认为甘草抗氧化剂是较为安全的天然抗氧化剂, 对人民健康及食品工业的发展, 特别是儿童食品具有一定的意义。

(原我站柳占彪同志参加了部分工作, 特此致谢。)

参 考 文 献

- (1) 原节子他, 油化学 • 1983;32:680—684
- (2) 才冢博雄, 村上文和 • 日本食品科学研究 1986;6:43—48

(上接17页)

[15] Siegel B. V. • Enhanced Interferon Response to Murine Leukemia Virus by Ascorbic Acid • Infect Immun 1974;10:409.

[16] Siegel B. V. • Enhancement of Interferon Production by Poly(I) Poly(C) in Mouse Cell Cultures by Ascorbic Acid • Nature 1975;254:531.