

## 研究报告

## 葛花亚慢性毒性研究

陈冠敏<sup>1</sup>, 黄宗锈<sup>1</sup>, 林健<sup>1</sup>, 黄佳宁<sup>1</sup>, 关则婷<sup>2</sup>, 郑丽红<sup>1</sup>, 卢叶枫<sup>3</sup>

(1. 福建省疾病预防控制中心 福建省人兽共患病重点实验室, 福建 福州 350001;  
2. 广东健生堂保健品有限公司, 广东 广州 510000; 3. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122)

**摘要:**目的 了解葛花亚慢性毒性, 为更好地开发利用葛花提供科学依据。方法 依据《食品安全性毒理学评价程序和方法》进行试验, 选取 80 只清结级 SD 大鼠, 按体质量分成 4 组, 给予剂量分别为 0、6.25、12.50、25.00 g/kg BW (以葛花计), 每组 20 只, 雌雄各半。受试组以葛花水及其醇提取物作为受试物, 每天按 10.0 ml/kg BW 进行灌胃, 连续 90 d。第 45 天采尾血进行血常规及生化指标检测; 第 90 天采血测定血常规及生化指标, 取肝、肾、脾、睾丸称重, 并对肝、肾、脾、胃肠、睾丸、卵巢作病理学检查。结果 各受试组大鼠体质量、进食量、食物利用率、脏器比各项指标与对照组对应指标比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 试验中期及结束时, 个别受试组大鼠血常规、血生化指标与对照组对应指标比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 但均在本实验室正常值范围内, 没有生物学意义; 组织病理学观察显示个别动物出现轻度的病理改变。结论 葛花剂量在 6.25 ~ 25.00 g/kg BW 范围内对清洁级 SD 大鼠生长发育未见不良影响及毒副作用。

**关键词:** 葛花; 血常规; 血生化; 脏器比; 毒性; 保健食品; 凉茶原料; 毒理学试验

中图分类号: R155; R15 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)04-0372-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.04.006

A study on subchronic toxicity of *Flos Puerariae*

CHEN Guan-min, HUANG Zong-xiu, LIN Jian, HUANG Jia-ning,

GUAN Ze-ting, ZHENG Li-hong, LU Ye-feng

(Fujian Center For Disease Control and Prevention, Fujian Fuzhou 350001, China)

**Abstract: Objective** The aim of this study was to investigate subchronic toxicity of *Flos Puerariae*. **Methods** According to procedures and methods for toxicological assessment of food (2003 edition), eighty SD mice were randomly divide into four groups (10 male and 10 female in each group). 0, 6.25, 12.5, 25.0 g/kg BW of *Flos Puerariae* extract were given by gavage for 90 days respectively. On the 45<sup>th</sup> day, samples of blood were collected from tails to perform complete blood count and biochemical tests. After 90 days, samples of blood were collected and were used for blood count and biochemical tests; livers, kidneys, spleens and testicles (ovaries) were weighed; pathological examinations of livers, kidneys, spleens stomach intestines testicles and ovaries were conducted. **Results** The results showed that indexes including weight, food intakes, food utilizations, and organ-body ratios in treatment groups are not significant different from those in the control group ( $P > 0.05$ ); in the interim and at the end of experiments, the blood count and biochemical tests of some certain treatment groups have statistical difference ( $P < 0.05$ ); however, the difference is in a normal range and has no biological significance; minor pathological changes have been discovered in a few treatment groups through the histopathology examination. **Conclusion** *Flos Puerariae* extracts have no adverse effect on the growth performance of mice under the doses of pueraria flower in a range of 6.25-25.00 g/kg BW. Moreover, *Flos Puerariae* extracts haven't caused obvious toxic and side effects on experimental animals.

**Key words:** *Flos Puerariae*; complete blood count; blood biochemical test; organ-body ratio; toxicity; health food; cool tea raw materials; toxicology experiment

葛花又称葛条花, 为豆科植物野葛或甘葛藤的

干燥花, 具有解酒醒脾、保肝护肝、降低血糖和血脂等保健功能<sup>[1-3]</sup>, 越来越受消费者的青睐。葛花作为广东地区常用的护肝凉茶饮料原料, 但是其安全问题鲜见文献报道。本文旨在以规范的毒理学方法为试验手段, 对葛花进行亚慢性毒性研究, 从而了解葛花作为保健食品原料是否安全或是否存在

收稿日期: 2015-05-04

基金项目: 国家科技部 863 计划重点项目 (2010AA023001)

作者简介: 陈冠敏 女 主任技师 研究方向为卫生毒理学及保健食品功能学 E-mail: chinaegm@sina.com

毒副作用,为更好地开发利用葛花提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物及饲养

选用清洁级 SD 离乳雌、雄大鼠各 40 只购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号:SCXK(沪)2007-0005],体质量 64~79 g,4 周龄;饲养于福建省疾病预防控制中心 SPF 级动物实验室[许可证号:SYXK(闽)2007-0006],温度 20~25℃,湿度 45%~65%。饲料购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号:沪饲审(2008)04002]。

#### 1.1.2 主要仪器及试剂

7060C 全自动生化分析仪(日本 Hitachi)、CELL-DUN3700 血球分析仪(美国雅培制药有限公司)、LEICA ST5020 全自动染色机(德国 Leica)、全自动密封脱水机、石蜡切片机、显微镜。

谷丙转氨酶试剂盒(LOT 102152A、EXP 20120701,生化检测均在 2012 年 4 月 5 日之前完成)、谷草转氨酶试剂盒(LOT 012261J、EXP 20130401)、肌酐试剂盒(LOT 112171K、EXP 20130501)、总胆固醇试剂盒(LOT 106211E、EXP 20121101)、甘油三酯试剂盒(LOT 107021F、EXP 20121201)、血糖试剂盒(LOT 105101D、EXP 20121001)、总蛋白试剂盒(LOT 106221F、EXP 20121201)、白蛋白试剂盒(LOT 106211E、EXP 20121101)均购于北京利德曼生化试剂公司,尿素试剂盒(LOT 111207、EXP 121207)购于浙江新昌康特生化试剂公司,血常规采用雅培 CELL-DUN3700 血球分析仪专用试剂盒,溶血素(LOT 1272612、EXP 2013-12-31)、清洗液(LOT 0627912、EXP 2012-12-31)、稀释液(LOT 0517112、EXP 2012-12-30)、鞘液(LOT 0846512、EXP 2013-02-28)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试验分组

试验动物按体质量分成 4 组,每组 20 只,雌雄各半。葛花每天最高用量为 7.5 g,相当于 0.125 g/kg BW(以葛花计,成人体质量以 60 kg 计),试验按成人每日最高用量的 50、100、200 倍设 3 个剂量组,即 6.25、12.50、25.00 g/kg BW(以葛花计,分别为低、中、高剂量组,相当于浸膏粉 0.83、1.67、3.33 g/kg BW)及溶剂对照组(蒸馏水)。试验时每日用蒸馏水按 3 个试验剂量配制 3 个浓度,以经口灌胃方式给予,灌胃量为 10.0 ml/kg BW。试验期间动物单笼喂养,自由进食饮水,每天观察活动状态,记录饲料洒漏量,每周称重,记录进食量,计算食物利用率。试验第

45 天时,采尾血测血常规(红细胞计数、白细胞计数、白细胞分类、血红蛋白、血小板、红细胞积压)及生化指标(谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素、肌酐、总胆固醇、甘油三酯、血糖、总蛋白、白蛋白);喂养第 90 天,禁食过夜,动物称重,采血作血常规及生化指标测定,取出肝、肾、脾、睾丸称重,并对肝、肾、脾、胃肠、睾丸、卵巢作病理学检查<sup>[4]</sup>。

#### 1.2.2 指标测定

血常规(红细胞计数、白细胞计数、血红蛋白、白细胞分类、血小板、红细胞积压)和生化指标(谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素、肌酐、总胆固醇、甘油三酯、血糖、总蛋白、白蛋白)按《全国临床检验操作规程(第 3 版)》<sup>[5]</sup>检测。

### 1.3 统计学分析

试验数据以 SPSS 11.0 软件进行单因素方差分析。经方差齐性检验,方差齐的试验数据采用最小显著差异法进行统计分析,方差不齐的实验数据采用 Tambane 法进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 对大鼠生长状态的影响

试验期间,受试组大鼠毛质白、有光泽,外观形态与对照组比较无明显差异,无异常,也无死亡。

### 2.2 对大鼠体质量的影响

试验结束时体质量及增重、总进食量、食物利用率与对照组相应项目差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),结果见表 1。

### 2.3 对大鼠血常规指标的影响

灌胃第 45 天,雄性 6.25、25.00 g/kg BW 剂量组的血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数指标下降,12.50 g/kg BW 剂量组嗜碱性粒细胞指标升高;雌性 25.00 g/kg BW 剂量组血红蛋白升高,6.25、25.00 g/kg BW 剂量组的白细胞计数指标升高,与对照组指标比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );灌胃第 90 天,雄性 25.00 g/kg BW 剂量组血红蛋白、红细胞计数、淋巴细胞指标下降,中性粒细胞升高;雌性各剂量组嗜碱粒细胞指标下降与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结果见表 2、3。

### 2.4 对大鼠血生化指标的影响

灌胃第 45 天雄性 6.25、25.00 g/kg BW 剂量组谷草转氨酶、甘油三酯下降,尿素、白蛋白、总胆固醇升高;雌性 6.25 g/kg BW 剂量组谷草转氨酶和血糖、25.00 g/kg BW 剂量组血糖升高,尿素、肌酐、白蛋白、总胆固醇指标下降与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。灌胃第 90 天,雄性 25.00 g/kg BW 剂量组血糖、12.50 和 25.00 g/kg BW 剂量组甘油三酯指标升

表1 葛花对大鼠体质量、总进食量及总食物利用率的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )Table 1 Impact of the weight, total food intake and total food utilization of *Flos Puerariae* in rats

分组	雄大鼠				
	初始体质量/g	禁食前体质量/g	体质量增重/g	总进食量/g	总食物利用率/%
对照组	74.3 ± 2.8	591.5 ± 24.7	517.2 ± 26.1	2 644.6 ± 31.0	19.56 ± 0.95
6.25 g/kg BW	74.4 ± 3.0	586.3 ± 11.0	511.9 ± 8.7	2 636.0 ± 24.8	19.42 ± 0.37
12.50 g/kg BW	74.3 ± 2.8	595.8 ± 21.8	521.7 ± 21.1	2 605.1 ± 38.8	20.02 ± 0.66
25.00 g/kg BW	74.3 ± 2.9	587.9 ± 14.3	513.6 ± 13.6	2 701.2 ± 67.2	19.02 ± 0.68
分组	雌大鼠				
	初始体质量/g	禁食前体质量/g	体质量增重/g	总进食量/g	总食物利用率/%
对照组	68.3 ± 3.2	327.6 ± 14.7	259.3 ± 13.1	2 280.7 ± 34.6	11.37 ± 0.58
6.25 g/kg BW	68.2 ± 3.2	325.4 ± 14.3	257.2 ± 12.8	2 252.1 ± 46.3	11.42 ± 0.56
12.50 g/kg BW	68.2 ± 3.2	331.4 ± 14.9	263.2 ± 16.3	2 313.4 ± 58.4	11.39 ± 0.87
25.00 g/kg BW	68.6 ± 3.5	322.6 ± 6.8	254.0 ± 6.9	2 254.8 ± 34.1	11.27 ± 0.36

表2 第45天葛花对雄、雌大鼠血液学指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )Table 2 Impact on the hematology index for male and female rats of *Flos Puerariae* in 45 days

分组	雄大鼠									
	血红蛋白 /(g/L)	红细胞计数 /( $\times 10^{12}$ /L)	白细胞计数 /( $\times 10^9$ /L)	血小板计数 /( $\times 10^9$ /L)	红细胞 压积/%	嗜酸粒 细胞/%	嗜碱粒 细胞/%	中性粒 细胞/%	淋巴细胞 /%	单核细胞 /%
对照组	152 ± 7	8.3 ± 0.4	15.4 ± 3.4	973.6 ± 185.5	84.4 ± 4.3	2.4 ± 1.2	3.9 ± 1.2	13.4 ± 4.9	73.4 ± 6.6	6.9 ± 2.4
6.25 g/kg BW	142 ± 5*	7.8 ± 0.3*	9.1 ± 2.9*	924.8 ± 156.5	80.7 ± 2.8	2.5 ± 0.4	3.0 ± 1.0	12.2 ± 3.4	76.0 ± 5.7	6.3 ± 2.4
12.50 g/kg BW	150 ± 5	8.2 ± 0.5	15.2 ± 3.7	1 045.1 ± 223.2	83.1 ± 2.8	2.0 ± 0.6	5.1 ± 1.4*	16.1 ± 9.7	71.0 ± 9.6	5.8 ± 2.2
25.00 g/kg BW	142 ± 7*	7.8 ± 0.4*	9.2 ± 1.5*	975.1 ± 246.6	80.4 ± 3.8	2.2 ± 0.5	4.2 ± 1.4	12.7 ± 7.4	75.3 ± 8.4	5.6 ± 1.6
分组	雌大鼠									
	血红蛋白 /(g/L)	红细胞计数 /( $\times 10^{12}$ /L)	白细胞计数 /( $\times 10^9$ /L)	血小板计数 /( $\times 10^9$ /L)	红细胞 压积/%	嗜酸粒 细胞/%	嗜碱粒 细胞/%	中性粒 细胞/%	淋巴细胞 /%	单核细胞 /%
对照组	142 ± 10	7.7 ± 0.6	9.8 ± 3.3	1 045.2 ± 334.0	79.0 ± 5.4	2.2 ± 0.9	3.6 ± 1.4	13.5 ± 7.4	73.1 ± 11.6	7.7 ± 4.0
6.25 g/kg BW	148 ± 5	8.1 ± 0.3	14.0 ± 2.8*	939.4 ± 152.0	81.5 ± 2.8	1.8 ± 0.5	3.7 ± 1.5	14.4 ± 4.1	74.0 ± 4.4	6.0 ± 2.1
12.50 g/kg BW	143 ± 7	7.9 ± 0.5	9.4 ± 2.3	860.2 ± 214.6	81.0 ± 3.5	1.8 ± 0.5	3.4 ± 2.0	12.5 ± 6.2	73.6 ± 12.6	8.8 ± 5.3
25.00 g/kg BW	148 ± 4*	8.1 ± 0.4	12.4 ± 3.0*	977.4 ± 139.8	81.8 ± 2.9	2.3 ± 0.7	4.3 ± 2.3	15.1 ± 5.1	72.4 ± 7.2	5.9 ± 1.2

注: \* 为与对照组比较  $P < 0.05$ 表3 第90天葛花对雄、雌大鼠大鼠血液学指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )Table 3 Impact on the hematology index for male and female rats of *Flos Puerariae* in 90 days

分组	雄大鼠									
	血红蛋白 /(g/L)	红细胞计数 /( $\times 10^{12}$ /L)	白细胞计数 /( $\times 10^9$ /L)	血小板计数 /( $\times 10^9$ /L)	红细胞 压积/%	嗜酸粒 细胞/%	嗜碱粒 细胞/%	中性粒 细胞/%	淋巴细胞 /%	单核细胞 /%
对照组	150 ± 7	9.1 ± 0.5	9.2 ± 1.6	809.2 ± 166.5	83.1 ± 4.1	2.9 ± 0.5	3.0 ± 1.1	17.9 ± 5.5	70.0 ± 7.3	6.2 ± 1.9
6.25 g/kg BW	149 ± 8	9.2 ± 0.5	9.8 ± 2.7	806.6 ± 226.5	82.7 ± 4.6	3.0 ± 0.7	3.0 ± 1.0	19.6 ± 5.9	67.1 ± 8.7	7.3 ± 2.8
12.50 g/kg BW	152 ± 5	9.2 ± 0.5	9.2 ± 2.3	965.0 ± 58.9	83.2 ± 2.8	3.0 ± 1.0	3.2 ± 0.9	20.0 ± 8.7	67.0 ± 8.6	6.9 ± 1.4
25.00 g/kg BW	144 ± 6*	8.6 ± 0.4*	11.1 ± 5.5	924.9 ± 216.2	79.8 ± 2.8	2.7 ± 0.7	3.3 ± 0.6	26.4 ± 13.2*	60.1 ± 14.5*	7.5 ± 2.5
分组	雌大鼠									
	血红蛋白 /(g/L)	红细胞计数 /( $\times 10^{12}$ /L)	白细胞计数 /( $\times 10^9$ /L)	血小板计数 /( $\times 10^9$ /L)	红细胞 压积/%	嗜酸粒 细胞/%	嗜碱粒 细胞/%	中性粒 细胞/%	淋巴细胞 /%	单核细胞 /%
对照组	143 ± 4	8.4 ± 0.4	6.2 ± 1.6	771.9 ± 289.7	83.1 ± 4.1	2.9 ± 0.5	4.3 ± 1.2	23.2 ± 13.9	62.3 ± 15.2	6.9 ± 2.9
6.25 g/kg BW	147 ± 5	8.5 ± 0.4	7.7 ± 2.5	791.0 ± 243.9	82.7 ± 4.6	3.0 ± 0.7	2.4 ± 0.8*	27.3 ± 16.8	62.4 ± 16.6	5.5 ± 1.7
12.50 g/kg BW	146 ± 7	8.6 ± 0.5	6.5 ± 1.8	933.3 ± 177.7	83.2 ± 2.8	3.0 ± 1.0	2.6 ± 0.7*	26.9 ± 13.2	63.0 ± 12.9	5.2 ± 1.8
25.00 g/kg BW	147 ± 6	8.7 ± 0.4	5.0 ± 0.9	883.6 ± 202.5	79.8 ± 2.8	2.7 ± 0.7	2.6 ± 0.9*	16.7 ± 6.6	72.7 ± 7.4	5.2 ± 2.0

注: \* 为与对照组比较  $P < 0.05$ 

高,雌性6.25 g/kg BW 剂量组的血糖下降,与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),结果见表4、5。

## 2.5 对大鼠脏器体比的影响

灌胃第90天,各剂量组大鼠肝体比、肾体比、脾体比、脾体比与对照组比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),结果见表6。

## 2.6 对组织学病理检查结果的影响

灌胃第90天各剂量组动物大体检查未见病变,

病理检查发现个别动物肝脏、肾脏出现轻度病变。正常肝小叶结构明显,肝细胞无坏死病变,少数肝汇管区见淋巴细胞等炎细胞浸润,无纤维组织增生,胆管未见异常;部分雄性大鼠肝细胞出现肿胀、颗粒变性及肝细胞胞浆内出现脂肪空泡,呈脂肪变,其中对照组4只、高剂量组6只出现脂肪空泡;见图1~4。胃和十二指肠粘膜完整,无明显出血、坏死、糜烂、溃疡及炎细胞浸润,个别大鼠肠粘膜轻

表4 第45天葛花对雄、雌大鼠血生化指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )Table 4 Impact on the blood biochemistry index for male and female rats of *Flos Puerariae* in 45 days

分组	雄大鼠								
	谷丙转氨酶 /(U/L)	谷草转氨酶/ (U/L)	尿素 /(mmol/L)	肌酐 /( $\mu$ mol/L)	血糖 /(mmol/L)	白蛋白/ (g/L)	总蛋白/ (g/L)	总胆固醇 /(mmol/L)	甘油三酯 /(mmol/L)
对照组	59.0 ± 6.0	126.2 ± 6.1	3.6 ± 0.5	57.1 ± 9.7	4.96 ± 0.68	30.4 ± 0.6	65.9 ± 2.3	1.98 ± 0.22	1.25 ± 0.64
6.25 g/kg BW	56.5 ± 14.3	106.6 ± 15.8*	5.0 ± 0.6*	65.1 ± 8.2	4.65 ± 0.69	34.1 ± 2.7*	69.3 ± 4.1	2.66 ± 0.46*	0.55 ± 0.05*
12.50 g/kg BW	57.5 ± 5.8	133.4 ± 13.7	3.6 ± 0.3	55.9 ± 2.4	4.92 ± 0.52	30.2 ± 2.3	65.5 ± 1.9	2.19 ± 0.26	1.84 ± 0.73
25.00 g/kg BW	53.8 ± 5.5	109.0 ± 13.7*	5.6 ± 0.9*	66.0 ± 3.3	4.74 ± 0.48	35.3 ± 3.5*	70.9 ± 6.0	2.63 ± 0.59*	0.54 ± 0.15*
分组	雌大鼠								
	谷丙转氨酶 /(U/L)	谷草转氨酶/ (U/L)	尿素 /(mmol/L)	肌酐 /( $\mu$ mol/L)	血糖 /(mmol/L)	白蛋白/ (g/L)	总蛋白/ (g/L)	总胆固醇 /(mmol/L)	甘油三酯 /(mmol/L)
对照组	49.6 ± 9.7	94.7 ± 10.2	5.0 ± 0.7	60.9 ± 3.3	5.20 ± 0.54	33.6 ± 4.4	68.7 ± 5.7	2.58 ± 0.55	0.83 ± 0.28
6.25 g/kg BW	56.4 ± 7.3	110.4 ± 16.0*	3.8 ± 0.5*	52.0 ± 3.8*	5.79 ± 0.51*	29.6 ± 2.9*	65.2 ± 1.5	1.93 ± 0.22*	1.43 ± 0.81
12.50 g/kg BW	55.0 ± 6.0	104.9 ± 14.4	5.0 ± 0.6	62.9 ± 4.1	5.01 ± 0.39	33.9 ± 3.4	69.7 ± 2.9	2.69 ± 0.43	0.87 ± 0.32
25.00 g/kg BW	50.2 ± 6.7	105.8 ± 17.9	3.8 ± 0.7*	53.1 ± 3.0*	5.98 ± 0.67*	29.2 ± 3.5*	65.2 ± 1.2	2.10 ± 0.21*	1.07 ± 0.39

注: \* 为与对照组比较  $P < 0.05$ 表5 第90天葛花对雄、雌大鼠血生化指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )Table 5 Impact on the blood biochemistry index for male and female rats of *Flos Puerariae* in 90 days

分组	雄大鼠								
	谷丙转氨酶 /(U/L)	谷草转氨酶/ (U/L)	尿素 /(mmol/L)	肌酐 /( $\mu$ mol/L)	血糖 /(mmol/L)	白蛋白/ (g/L)	总蛋白/ (g/L)	总胆固醇 /(mmol/L)	甘油三酯 /(mmol/L)
对照组	50.5 ± 5.8	114.5 ± 11.3	6.9 ± 0.5	47.5 ± 3.8	5.99 ± 1.04	28.1 ± 1.1	63.7 ± 2.6	1.95 ± 0.37	0.77 ± 0.37
6.25 g/kg BW	50.9 ± 7.4	122.6 ± 19.8	7.3 ± 1.1	47.5 ± 1.7	6.57 ± 0.65	27.1 ± 2.0	63.7 ± 2.1	1.92 ± 0.17	1.14 ± 0.45
12.50 g/kg BW	51.0 ± 5.9	110.8 ± 13.0	7.0 ± 0.9	46.0 ± 2.6	6.63 ± 0.60	28.3 ± 0.7	63.9 ± 1.7	1.82 ± 0.27	1.30 ± 0.52*
25.00 g/kg BW	52.3 ± 4.4	116.0 ± 22.2	7.5 ± 0.6	45.5 ± 2.6	7.05 ± 0.65*	26.6 ± 2.9	63.6 ± 3.4	1.77 ± 0.24	1.37 ± 0.66*
分组	雌大鼠								
	谷丙转氨酶 /(U/L)	谷草转氨酶/ (U/L)	尿素 /(mmol/L)	肌酐 /( $\mu$ mol/L)	血糖 /(mmol/L)	白蛋白/ (g/L)	总蛋白/ (g/L)	总胆固醇 /(mmol/L)	甘油三酯 /(mmol/L)
对照组	51.4 ± 9.0	104.6 ± 24.5	9.4 ± 1.0	52.2 ± 3.7	6.30 ± 0.44	34.7 ± 4.0	72.4 ± 6.1	2.87 ± 0.64	0.62 ± 0.15
6.25 g/kg BW	58.4 ± 23.8	115.1 ± 24.4	10.5 ± 1.6	53.9 ± 5.9	5.60 ± 0.47*	34.7 ± 3.6	73.7 ± 6.5	2.69 ± 0.61	0.82 ± 0.72
12.50 g/kg BW	49.4 ± 6.8	107.2 ± 16.4	9.3 ± 1.6	51.6 ± 4.9	5.93 ± 0.64	36.7 ± 3.4	76.0 ± 5.1	2.96 ± 0.69	0.82 ± 0.42
25.00 g/kg BW	46.2 ± 12.2	96.3 ± 11.9	9.2 ± 1.0	50.0 ± 2.6	6.03 ± 0.59	36.4 ± 2.7	75.0 ± 4.5	3.05 ± 0.55	0.78 ± 0.24

注: \* 为与对照组比较  $P < 0.05$ 表6 雄、雌大鼠脏器重量和脏体比( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 6 Absolute and relative organ weights of male and female pups

分组	雄大鼠						
	肝/g	脾/g	肾/g	宰杀体重/g	肝体比/%	脾体比/%	肾体比/%
对照组	15.56 ± 1.69	1.03 ± 0.12	3.50 ± 0.41	566.2 ± 32.6	27.5 ± 2.6	1.8 ± 0.1	6.2 ± 0.8
6.25 g/kg BW	14.88 ± 1.80	0.97 ± 0.16	3.34 ± 0.37	561.0 ± 13.4	26.5 ± 3.4	1.7 ± 0.3	6.0 ± 0.7
12.50 g/kg BW	15.76 ± 2.03	1.06 ± 0.18	3.67 ± 0.39	571.2 ± 25.4	27.6 ± 3.1	1.8 ± 0.3	6.4 ± 0.8
25.00 g/kg BW	15.81 ± 1.86	1.04 ± 0.11	3.70 ± 0.29	563.1 ± 13.4	28.1 ± 3.4	1.8 ± 0.2	6.6 ± 0.5
分组	雌大鼠						
	肝/g	脾/g	肾/g	宰杀体重/g	肝体比/%	脾体比/%	肾体比/%
对照组	8.41 ± 0.55	0.62 ± 0.07	1.88 ± 0.14	310.5 ± 12.4	27.1 ± 1.9	2.0 ± 0.3	6.1 ± 0.3
6.25 g/kg BW	8.63 ± 0.95	0.64 ± 0.07	1.89 ± 0.17	308.8 ± 16.6	28.0 ± 3.2	2.1 ± 0.2	6.1 ± 0.5
12.50 g/kg BW	8.32 ± 0.82	0.61 ± 0.06	1.83 ± 0.19	315.3 ± 15.2	26.4 ± 2.8	1.9 ± 0.2	5.8 ± 0.8
25.00 g/kg BW	8.78 ± 0.97	0.62 ± 0.08	1.86 ± 0.20	308.3 ± 9.7	28.5 ± 3.0	2.0 ± 0.3	6.0 ± 0.7

度水肿,无明显腺体增生萎缩改变。肾皮髓质结构清楚,个别大鼠肾小管内可见管型及肾间质内可见少量炎细胞浸润,少数大鼠肾小管上皮空泡变性及肿胀,其中雄性大鼠高剂量组5只、对照组3只出现肿胀,见图5~8。脾白髓、红髓结构清楚,白髓、红髓无明显扩张或萎缩现象;大多数大鼠脾脏内见色素沉着,呈退行性改变,见图9、10。睾丸中曲细精管正常,可见各级生精细胞及成熟精子,个别睾丸

生精上皮细胞减少,少数大鼠睾丸间质水肿。卵巢发育正常,可见各级卵泡和成熟黄体。以上病理变化均轻微并见于各组,组间病理变化无明显差异。

### 3 讨论

葛花主要分布于广东、广西、四川、云南等地,民间将它作为传统凉茶原料,其主要化学成分有异黄酮类、皂苷类化合物、挥发油类、甾醇类生物碱和

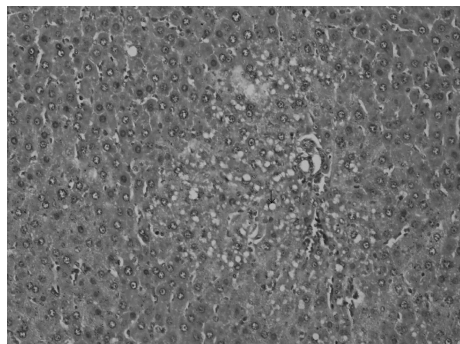


图1 对照组肝空泡变(HE × 100)

Figure 1 Liver cell vacuolization in the control

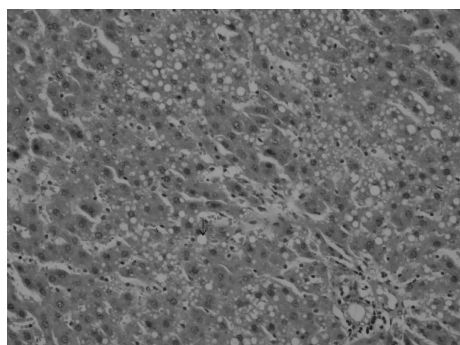


图2 高剂量组肝细胞空泡变(HE × 100)

Figure 2 Liver cell vacuolization in the high dose

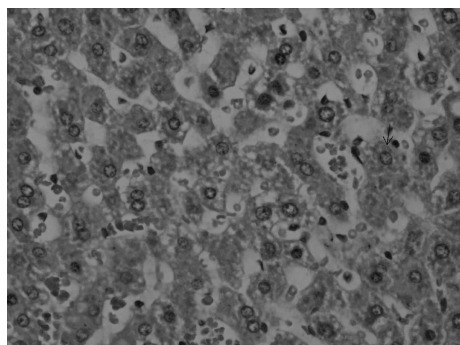


图3 对照组肝细胞颗粒变(HE × 400)

Figure 3 Particles become liver cells in the control

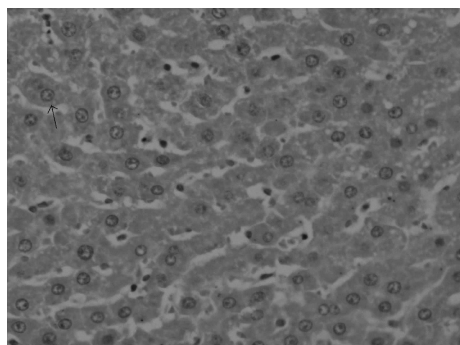


图4 高剂量组肝细胞颗粒变(HE × 400)

Figure 4 Particles become liver cells in the high dose

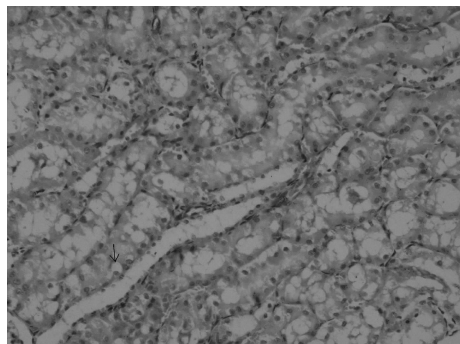


图5 对照组肾小管空泡变(HE × 200)

Figure 5 Renal tubular vacuolization in the control

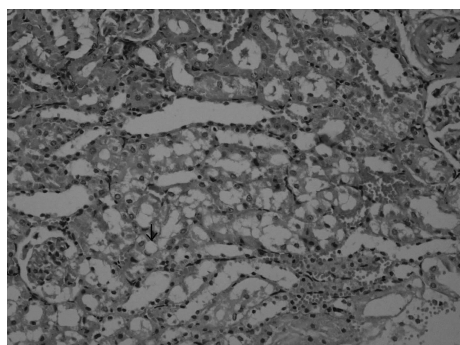


图6 高剂量组肾小管空泡变(HE × 200)

Figure 6 Renal tubular vacuolization in the high dose

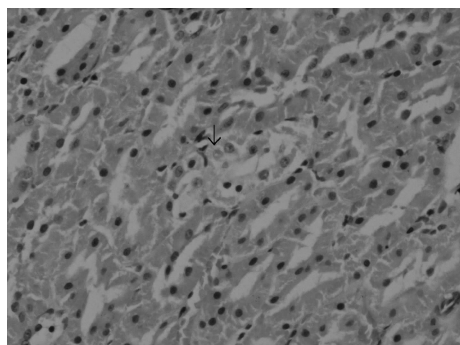


图7 对照组肾小管肿胀(HE × 200)

Figure 7 Swelling of renal tubular in the control

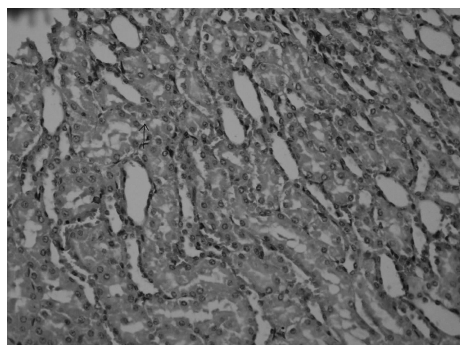


图8 高剂量组肾小管肿胀(HE × 200)

Figure 8 Swelling of renal tubular in the high

氨基酸等<sup>[6]</sup>。资料显示,葛花其水提取物通过激活乙醇脱氢酶活性有效降低血中乙醇浓度,对酒精引

起的肝细胞损害有保护作用;葛花的异黄酮及三萜皂苷能降低血中乙醇、乙醛浓度,降低谷草转氨酶、

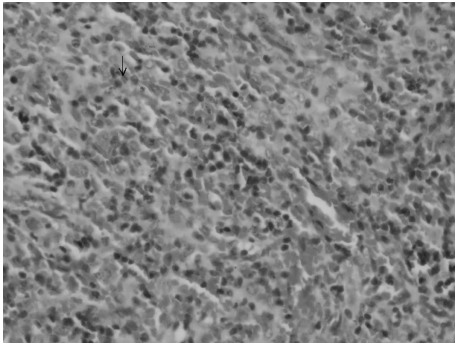


图9 对照组脾色素沉着(HE×400)

Figure 9 Spleen pigmentation in the control

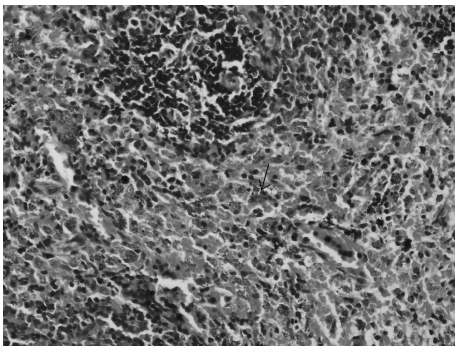


图10 高剂量组脾色素沉着(HE×400)

Figure 10 Spleen pigmentation in the high dose

谷丙转氨酶活性,有效保护由  $\text{CCl}_4$  所致小鼠肝损伤<sup>[7-8]</sup>。目前作为解酒护肝保健食品的原料,曾有不良反应报道<sup>[9-10]</sup>,服用 50 g 葛花后,会引起恶心、呕吐、心悸并伴有短暂的晕厥和抽搐;口服 15 g 葛花泡水 200 ml 会出现剧烈呕吐、口唇麻木、心悸、全身出汗、面色苍白等葛花中毒症状。关则婷等<sup>[11]</sup>首次对葛花进行了急性毒性和遗传毒性的研究,未发现急性及遗传毒性,葛花的安全性得到政府及相关企业的重视。

为了解长期服用葛花是否对机体产生潜在的毒副作用,其实验剂量的设定非常重要,关系到试验结果能否正确评价受试物是否存在毒性作用,以及将动物毒性试验结果外推到人时,能否确保对人群的安全性;鉴于动物、人的种属以及个体之间的生物学差异,通常以安全系数 100 来界定<sup>[4]</sup>。本试验依据《医林纂要》、《全国中草药汇编》<sup>[12]</sup>的记载,葛花每天最高用量定为 7.5 g,按其摄入量 200 倍设为最高试验剂量。试验结果显示,试验剂量在 6.25 ~ 25.00 g/kg BW,即在每日最高食用量的 50 ~ 200 倍范围内,葛花对大鼠体质量及体质量增重、进食量、食物利用率及脏器系数等动物生长指标无明显影响。

本试验血常规检测结果显示:个别剂量的血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数、中性粒细胞等指标与对照组比较有差异,但在本实验室正常值范围

内。灌胃第 45 天 6.25、25.00 g/kg BW 剂量组雄雌大鼠白细胞计数出现异常,但灌胃第 90 天后其白细胞计数恢复正常,白细胞计数的差异可能与试验中期眼球采血导致异常有关。

血生化检测结果显示:灌胃第 45 天 6.25、25.00 g/kg BW 剂量组雄性大鼠尿素、白蛋白、总胆固醇及雄性大鼠的血糖均高于对照组,灌胃第 90 天 6.25 g/kg BW 剂量组雄性大鼠血糖高于对照组,但均在本实验室正常值范围内,其余各剂量组大鼠的血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素、肌酐、总胆固醇、甘油三酯、总蛋白、白蛋白均与对照组无明显差异,提示葛花在试验剂量为 6.25 ~ 25.00 g/kg BW 范围内对动物生化指标未见不良影响。

组织病理学检查结果显示:25.00 g/kg BW 剂量组肝细胞出现肿胀、颗粒变及肝细胞胞浆内出现呈脂肪变的脂肪空泡的雄性动物数多于对照组;25.00 g/kg BW 剂量组肾脏出现肾小管上皮肿胀的雄性动物数略多于对照组,这些脏器出现的病理改变均轻微并见于各组动物。

综上所述,试验剂量在 6.25 ~ 25.00 g/kg BW 范围内葛花对清结级 SD 大鼠生长发育未见不良影响,增加试验剂量是否对大鼠产生不良反应还有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科技出版社,1994:2307.
- [2] Kim C, Shin S, Ha H, et al. Study of substance changes in flowers of *Pueraria thunbergiana* Benth. during torag [J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(3): 210-213.
- [3] 苗彦妮, 钟毓生. 葛花对大鼠酒精性肝损伤的预防作用研究 [J]. 科技导报, 2008, 26(15): 60-65.
- [4] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 15193.1-21—2003 食品安全性毒理学评价程序和方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [5] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程 [M]. 第 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2010: 121-143.
- [6] 王胜鹏, 陈美婉, 王一涛. 葛花化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(2): 193-196.
- [7] 芦洁, 李文哲, 倪亚明. 中药水提取物对乙醇脱氢酶活性影响的初步研究 [J]. 同济大学学报医学版, 2002, 23(1): 23.
- [8] 王东坡, 谭学林. 葛花解醒汤对酒精性肝病防治作用研究 [J]. 贵阳中医学院学报, 2002, 24(2): 55.
- [9] 石开玖. 葛花致晕厥 1 例 [J]. 四川中医, 1988, 6(8): 封三.
- [10] 范瑞琴, 冯艳, 赵昌林. 葛花中毒 1 例报告 [J]. 湖北中医杂志, 2001, 23(6): 42.
- [11] 关则婷, 叶小忠, 梁群欢, 等. 葛花急性毒性及遗传毒性试验研究 [J]. 中国医药导报, 2014, 11(9): 130-134.
- [12] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(2) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 855.