

· 毒理 ·

辅酶 Q10 软胶囊的急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性研究

姚文环*, 杨非, 颜燕, 郭婕

(山东省疾病预防控制中心, 济南 250014)

[摘要] **目的:**研究辅酶 Q10 软胶囊的急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性。**方法:**按《保健食品检验与评价技术规范》2003 年版要求进行小鼠急性经口毒性试验、Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验和小鼠精子畸形试验及大鼠灌胃给药 30 d 的亚急性毒性观察。**结果:**该辅酶 Q10 软胶囊对雌雄小鼠 LD₅₀均大于 20 000 mg·kg⁻¹;Ames 试验中受试物各剂量组回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍,亦无剂量-反应关系;小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验和小鼠精子畸形试验中各剂量组微核率、精子畸形率与阴性对照组之间无显著性差异,为阴性。在 30 d 灌胃给药的亚急性毒性试验期内各实验组动物生长发育良好,体重增重、食物利用率、脏器质量和脏器系数等各项指标均在本实验室正常值范围内。实验组血常规及生化各指标均在本实验室正常值范围内。病理组织学检查实验组被检脏器未见有意义的病理改变。**结论:**该辅酶 Q10 软胶囊为无毒级物质,在所测剂量及检测指标范围内未见明显遗传毒性和亚急性毒性。

[关键词] 辅酶 Q10; 急性毒性; 遗传毒性; 亚急性毒性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0293-04

Study of Acute Toxicology, Inheritance Toxicology and Sub-acute Toxicology of Coenzyme Q10

YAO Wen-huan*, YANG Fei, YAN Yan, GUO Jie

(Shandong Center for Disease Control and Prevention, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To study the acute toxicity, inheritance toxicity and sub-acute toxicity of coenzyme Q10. **Method:** The acute oral toxicity test, inheritance toxicity test including Ames test, polychromatic erythrocytes micronucleus test and sperm malformation test of coenzyme Q10 were carried out in mice and 30-day feeding test in rats was also conducted according to 《technical standards for testing & assessment of health food》. **Result:** The result of acute toxicity in mice exceeded 20 000 mg · kg⁻¹ and all the results of inheritance toxicity test were negative. During the 30-day feeding experiment the rats grew well and there were no significant differences in body weight and food consumption compared with the control group. At the end of the experiment, compared with the control group, there were also no significant differences in blood and biochemical examination, The histopathological changes in liver, kidney, stomach, intestines, spleen, testicle and ovary were not observed in every group. **Conclusion:** Coenzyme Q10 is in non-toxic class; no inheritance toxicity and sub-acute toxicity were observed.

[Key words] coenzyme Q10; acute toxicity; genotoxicity; sub-acute toxicity

[收稿日期] 20111129(011)

[通讯作者] *姚文环, 硕士研究生, 主管技师, 从事卫生毒理学研究, Tel: 18615281977, E-mail: fengyaoyao96@163.com

辅酶 Q10 为脂溶性醌类化合物, 又名泛醌, 其还原型为泛醇, 广泛存在于动物、植物、微生物等细胞的线粒体上, 于线粒体内膜相结合, 为呼吸链的主要组分之一, 是氧化磷酸化过程中重要的电子传递体^[1]。在美国、欧洲、日本, 辅酶 Q10 已经运用于临

床多个领域,并已在保健品、化妆品市场等有较大的发展。在我国,辅酶 Q10 主要用于医疗领域,在保健食品中的应用直到 2006 年 9 月 25 日国家食品药品监督管理局出台了《以辅酶 Q10 为原料生产的保健食品申报与审评规定(征求意见稿)》,辅酶 Q10 才逐渐开始广泛用于保健食品^[2-3]。本次实验对辅酶 Q10 的急性、亚急性和遗传毒性等毒性进行研究^[4],旨在为辅酶 Q10 作为保健品原料进行开发提供安全性依据。

1 材料

1.1 样品 辅酶 Q10,浙江康恩贝集团医疗保健品有限公司提供,生产批号为 20110404,人体推荐量为 1.0 g/日,内容物为桔黄色。

1.2 试验动物及饲养环境 SPF 级昆明种小鼠(小鼠急性毒性试验用)由山东大学实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK(鲁)2009-0001;SPF 级 ICR 小鼠(骨髓微核试验和精子畸形试验用)和 SPF 级 SD 大鼠(大鼠 30 d 喂养试验用)由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,生产许可证号 SCXK(京)2009-0004;饲养环境为屏障级,实验动物使用许可证号 SYXK(鲁)2008-0005;实验动物标准饲料为北京华阜康生物科技股份有限公司,生产许可证号 SCXK(京)2009-0008 号。

1.3 菌株 试验菌株为经鉴定符合要求的鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型 TA97,TA 98,TA100,TA102(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所提供),体外活化系统为多氯联苯诱导大鼠肝匀浆制备的 S-9 混合液(本实验室自制)。试验前对二者进行鉴定,各项特征全部合格后使用。

1.4 试剂 环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 10032521),敌克松(Riedel-Haen 公司,批号为 45482),2-氨基苄(美国 Fluka Chemie AG 公司,批号 252361,689),甲基磺酸甲酯 1,8-二羟蒽醌(美国 Merck-Schuchardt 公司,批号 7238243),二甲基亚砜(上海试剂总厂,批号 20040101)生化试剂:CREAT(上海复星长征医学科学有限公司,批号 D1002113),其他生化试剂均为北京利德曼生化股份有限公司提供,天冬氨酸转氨酶(AST,批号 012142L),丙氨酸转氨酶(ALT,批号 203312C),尿素氮(BUN,批号 011082J),总胆固醇(TCHO,批号 0102911),甘油三酯(TG,批号 0101211),葡萄糖(GLU,批号 011221J),总蛋白(TP,批号 0111211),白蛋白(ALB,批号 011131J)。

1.5 仪器 ABBOTT CD3700 血细胞分析仪,

HITACHI7180 全自动生化分析仪,LEICA ASP200S 自动脱水机,LEICA EG1150H 包埋机,LEICA RM2125 切片机。

2 方法

2.1 小鼠急性毒性试验 按照最大耐受量(MTD)法试验进行^[4]。选择雌雄各 10 只小鼠,体重为 18.1~21.3 g。实验前空腹 16 h 备用(不限制饮水)。称取 10.0 g 受试物,以食用花生油配至 20 mL,终质量浓度为 500 g·L⁻¹,分两次灌胃给予实验动物,间隔 4 h,每次灌胃量为 20 mL·kg⁻¹,累计染毒剂量为 20.0 g·kg⁻¹,记录动物的中毒表现及死亡情况,连续观察 14 d。

2.2 遗传毒性

2.2.1 Ames 试验^[5] 试验设立 8,40,200,1 000,5 000 μg/皿 5 个剂量,同时设立自发回变组(未处理对照组)、溶剂对照(蒸馏水)组和阳性对照(TA97-S9,TA98-S9 均采用 50.0 μg/皿敌克松,TA97 + S9,TA98 + S9,TA100 + S9 均采用 10.0 μg/皿 2-氨基苄,TA100-S9,TA102-S9 均采用 1.0 μg/皿 甲基磺酸甲酯,TA102 + S9 采用 50.0 μg/皿 1,8-二羟蒽醌,溶剂均为二甲基亚砜)组。依据文献[4]进行 Ames 试验。37 ℃ 培养 48 h 后,计数每皿菌落数。试验在加 S9 与不加 S9 混合液条件下进行,每组设 3 个平行。若受试物的回变菌落数为自发回变组菌落数的 2 倍以上,并具有剂量-反应关系则判定为阳性。

2.2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验^[6] 选择体重 25~30 g 小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半。3 个实验组染毒剂量分别为 2.5,5.0,10.0 g·kg⁻¹,另设食用花生油阴性对照组和环磷酰胺阳性对照组(40 mg·kg⁻¹)。依据文献[4]进行小鼠骨髓细胞微核试验。光学显微镜下,每只动物镜检 1 000 个嗜多染红细胞(PCE),记录微核细胞数,计算微核率(即微核细胞数/嗜多染红细胞数,以百分率表示)。同时观察 200 个 PCE,计数观察到的正染红细胞(NCE)数目,并计算 PCE/NCE。

2.2.3 小鼠精子畸形试验 选择体重 27~31 g 雄性小鼠 25 只,随机分为 5 组,每组 5 只。剂量设置同 2.2.2,依据文献[4]进行小鼠精子畸变试验。每只动物计数 1 000 个结构完整的精子,记录畸变类型和数量,计算精子畸形率(以百分率表示)。

2.3 大鼠亚急性毒性试验

2.3.1 试验方法 选用体重 73~93 g 断乳大鼠 80 只,随机分为 4 组,每组 20 只,雌雄各半。根据人体

推荐量设立 3 个实验组,染毒剂量分别为 0.42, 0.83, 1.67 g·kg⁻¹ (分别相当于人体推荐量的 25, 50, 100 倍)。同时设立阴性对照(食用花生油)组,按每天 5.0 mL·kg⁻¹ 连续 ig 30 d。单笼喂养,自由饮食,连续观察 30 d。实验末期禁食 16 h,称取动物体重(供计算肝、脾、肾、睾丸等脏器系数使用)后,腹主动脉取血,进行血液学指标(包括血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数、中性细胞百分比、淋巴细胞百分比、单核细胞百分比、嗜碱细胞百分比、嗜酸细胞百分比)和生化指标测定(包括 ALT, AST, BUN, CREAT, CHOL, TRI, GLUC, TP, ALB 和白蛋白/球蛋白),解剖动物并取肝、脾、肾、睾丸、胃、肠、卵巢等脏器,进行病理组织学检查。

2.3.2 数据处理 使用 Microsoft Excel 和 SPSS 11.0 软件进行均数、标准差的计算和方差分析或秩和检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 急性毒性试验 ig 给予受试物后,未见明显中毒症状。14 d 内动物无死亡。最大耐受量试验结果显示,该受试物对两种性别小鼠的 MTD 均大于 20.0 g·kg⁻¹。根据急性毒性分级标准,该样品属无毒级。

3.2 遗传毒性试验

3.2.1 Ames 试验 无论是否加 S9,受试物各剂量组回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍,亦无剂量-反应关系,说明在加与不加 S-9 时该样品对鼠伤寒沙门氏菌 TA97, TA98, TA100, TA102 4 株试验菌株均未呈现遗传毒性。

3.2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 受试物各剂量组微核率与阴性对照组比较无显著性差异,而环磷酰胺阳性对照组与阴性对照组比较有极显著性差异,说明该样品无致小鼠骨髓嗜多染红细胞微核作用。

3.2.3 小鼠精子畸形试验 受试物各剂量组小鼠精子畸形率与阴性对照组比较无显著性差异,而环磷酰胺阳性对照组与阴性对照组比较有极显著性差异($P < 0.01$),说明该样品无致小鼠精子畸形作用。

3.3 大鼠亚急性毒性试验

3.3.1 动物的一般表现 试验周期内各实验组动物总体生长状况良好,体重逐周增长,未见中毒体征。各实验组动物每周体重、进食量、食物利用率和体重增重、总进食量、总食物利用率与对照组比较均无显著性差异。

3.3.2 血液学测定 各实验组动物血液学指标与对照组比较均无显著性差异,且其值均在本实验室正常值范围内。见表 1。

表 1 大鼠辅酶 Q10 30 d 喂养试验末期血液学检查($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	组别	剂量 /g·kg ⁻¹	血红蛋白 /g·L ⁻¹	红细胞计数 /×10 ¹² /L	白细胞计数 /×10 ⁹ /L	中性 /%	淋巴 /%	单核 /%	嗜碱 /%	嗜酸 /%
雄	对照	-	152.8±5.6	5.78±0.26	14.4±2.3	11.3±1.5	80.8±2.0	6.39±2.23	0.37±0.31	1.26±0.25
	Q10	0.42	148.8±9.9	5.96±0.56	12.8±4.1	12.9±4.0	78.0±4.6	6.99±1.72	0.43±0.29	1.26±0.33
		0.83	147.1±9.4	5.88±0.42	12.0±2.0	12.8±2.8	78.6±4.8	6.74±3.45	0.48±0.23	1.34±0.33
		1.67	150.5±9.1	5.92±0.46	12.1±3.5	11.4±2.8	79.4±3.4	7.57±1.92	0.37±0.34	1.24±0.34
雌	对照	-	147.0±5.1	5.48±0.27	10.1±1.4	10.0±1.4	81.1±2.2	6.72±1.26	0.80±0.32	1.31±0.48
	Q10	0.42	146.8±6.4	5.58±0.30	9.7±2.1	12.8±3.6	78.9±4.0	6.22±1.54	0.64±0.39	1.38±0.34
		0.83	146.5±7.1	5.70±0.37	9.7±3.4	11.6±2.1	80.6±4.1	5.98±3.04	0.67±0.52	1.38±0.32
		1.67	147.2±4.9	5.64±0.28	9.6±3.6	11.5±2.7	81.0±3.1	5.71±1.76	0.64±0.42	1.27±0.32

3.3.3 血液生化学测定 由表 2 可见,各实验组动物血生化各指标与对照组比较均无显著性差异,且其值均在本实验室正常值范围内。

3.3.4 病理解剖 卵巢肝、脾、肾、睾丸等脏器的质量和脏器系数与对照组比较均无显著性差异。大体观察各实验组动物的肝、肾、胃、肠、脾和卵巢/睾丸组织中,未见明显异常。组织学检查中,对照组雌 1/10 例和高剂量组雄 1/10 例标本内可观察到肝小

叶内点状的肝细胞坏死灶:单个或数个肝细胞坏死,细胞浆固缩、浓染,或细胞核破碎、溶解消失,细胞结构破坏甚至不复可见;对照组雄 1/10 例、雌 1/10 例和高剂量组雌 1/10 例标本内可观察到个别肾小管变性:小管上皮细胞肿胀,嗜酸性染色减弱,胞浆内出现透明空泡样区,胞核疏松淡染,小管管腔变窄。但这些病理改变程度较轻且无组间特异性分布,与对照组相比,不认为实验组出现有意义的病理改变。

表 2 大鼠辅酶 Q10 30 d 喂养试验末期血液生化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹	AST /U·L ⁻¹	BUN /μmol·L ⁻¹	CREAT /μmol·L ⁻¹	TCHO /mmol·L ⁻¹	TRI /mmol·L ⁻¹	GLU /mmol·L ⁻¹	TP /g·L ⁻¹	ALB /g·L ⁻¹	A/B
雄	对照	-	77.6 ± 8.1	169.1 ± 26.9	4.44 ± 0.70	32.2 ± 3.0	1.45 ± 0.21	1.27 ± 0.17	6.22 ± 0.77	61.7 ± 2.8	29.9 ± 0.6	0.95 ± 0.10
	Q10	0.42	75.4 ± 10.1	171.7 ± 17.1	4.06 ± 0.40	31.3 ± 2.6	1.34 ± 0.21	1.19 ± 0.15	6.09 ± 0.93	61.1 ± 2.0	29.4 ± 1.1	0.93 ± 0.06
		0.83	69.8 ± 6.1	157.1 ± 14.0	4.24 ± 0.48	30.3 ± 2.5	1.36 ± 0.10	1.26 ± 0.15	6.16 ± 0.46	61.7 ± 2.5	29.6 ± 1.2	0.92 ± 0.06
		1.67	71.5 ± 6.3	172.4 ± 26.0	4.10 ± 0.51	30.6 ± 3.5	1.33 ± 0.18	1.16 ± 0.13	5.69 ± 0.96	62.0 ± 1.9	29.7 ± 0.7	0.92 ± 0.06
雌	对照	-	72.4 ± 10.6	169.3 ± 19.6	4.93 ± 0.88	37.3 ± 2.3	1.52 ± 0.26	1.17 ± 0.11	5.70 ± 0.58	65.4 ± 2.0	31.9 ± 1.0	0.95 ± 0.06
	Q10	0.42	70.9 ± 6.9	162.0 ± 25.5	4.71 ± 0.78	34.8 ± 3.2	1.50 ± 0.20	1.15 ± 0.12	5.58 ± 0.52	65.3 ± 3.2	31.6 ± 1.8	0.94 ± 0.06
		0.83	66.5 ± 6.2	164.1 ± 26.5	4.80 ± 0.74	36.1 ± 2.7	1.45 ± 0.19	1.08 ± 0.10	5.44 ± 0.78	65.8 ± 3.7	32.0 ± 2.3	0.95 ± 0.07
		1.67	70.6 ± 9.9	178.6 ± 28.6	4.36 ± 0.63	34.9 ± 2.2	1.35 ± 0.13	1.09 ± 0.16	5.87 ± 0.61	64.3 ± 1.6	31.1 ± 0.7	0.94 ± 0.05

4 讨论

辅酶 Q10 在人体内通过给予和接受质子参与生物氧化还原作用,是细胞呼吸和细胞代谢的激活剂,同时还可参与体内的抗氧化作用^[7],在增强免疫系统功能、延缓衰老^[8]、防治癌症、高血压和心脏病^[9]等多种老年性及退行性疾病中扮演着重要角色。在本实验室条件下,急性毒性试验表明辅酶 Q10 为无毒级物质,遗传毒性试验和亚急性毒性试验在所试剂量未见辅酶 Q10 有遗传毒性和亚急性毒性。这些试验结果为辅酶 Q10 开发为保健食品、化妆品等提供了安全性数据。

[参考文献]

[1] 张迺衡. 生物化学[M]. 2 版. 北京:北京医科大学出版社,1997:191.
 [2] 薛茂云. 辅酶 Q10 的营养作用及应用[J]. 江苏调味副食品,2010,27(1):13.
 [3] 陶志杰,王改玲,李妍. 辅酶 Q10 的制备及应用新进展

[J]. 畜牧与饲料科学,2010,31(9):9.

[4] 保健食品检验与评价技术规范[S]. 卫监发[2003]:177.
 [5] 胡建平,刘春芳,林娜. 现代实验技术在中药遗传毒理学研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(8):66.
 [6] 张超超,吴文斌,汤家铭. 微核试验和彗星试验检测朱砂的遗传毒性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):228.
 [7] 王君明,崔瑛,申玲玲,等. 中药致药源性肝损伤的氧化应激机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):247.
 [8] 马德莲,郭玲,李欣华,等. 中草药的免疫作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(5):63.
 [9] 吕立勋,李洁,马会霞,等. 抗毒补心胶囊治疗病毒性心肌炎的临床和免疫学观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):200.

[责任编辑 聂淑琴]