

# 瑞鲍迪甙 A 对大鼠的致畸作用

王雨晶<sup>1</sup>, 鲁倩倩<sup>1</sup>, 余峥嵘<sup>1</sup>, 郑玲敏<sup>1</sup>, 周泽伟<sup>1</sup>, 李楠<sup>1</sup>, 张雨梅<sup>1,2\*</sup>

(1. 扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009; 2. 江苏省

动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏扬州 225009)

**摘要** [目的] 为进一步评价瑞鲍迪甙 A 的安全性积累资料。[方法] 于大鼠孕 7~17 d 经口给予 340、1 130 和 3 400 mg/kg b. w. 剂量的瑞鲍迪甙 A, 观察母鼠和仔鼠的生长发育情况, 研究瑞鲍迪甙 A 对大鼠的生殖毒性和胚胎毒性。[结果] 各剂量瑞鲍迪甙 A 组孕鼠行为正常, 无中毒和死亡情况。各剂量瑞鲍迪甙 A 组黄体数、着床数、活胎率、窝仔数及畸胎率、活胎仔畸形率及母体畸胎率等与正常对照组均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。[结论] 瑞鲍迪甙 A 对大鼠无明显生殖毒性及胚胎毒性和致畸作用。

**关键词** 瑞鲍迪甙 A; 致畸作用; Wistar 大鼠

**中图分类号** S859 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)05-131-02

## Study on the Teratogenicity of Rebaudioside A in Wistar Rats

WANG Yu-jing<sup>1</sup>, LU Qian-qian<sup>1</sup>, YU Zheng-rong<sup>1</sup>, ZHANG Yu-mei<sup>1,2\*</sup> et al (1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009; 2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou, Jiangsu 225009)

**Abstract** [Objective] The research aimed to provide materials for evaluating the safety of rebaudioside A futher. [Method] Rats were administrated with rebaudioside A at the doses of 340, 1 130 and 3 400 mg/kg b. w by gavage from the 7th day to the 17th day during the gestation. The growth and development laws of mother rats and baby rats were observed. And the reproductive toxicity and fetal toxicity of rebaudioside A to rats were studied. [Result] Abnormal behaviours, toxic symptom and death were not found on tested rats. And there was no significant difference of the luteal count, implanted number and live fetus rate, litter size, abnormal fetus rate, abnormal rate of live fetus and maternal teratogenic rate in the groups of different doses of rebaudioside A had no significant difference with that on control group ( $P > 0.05$ ). [Conclusion] Rebaudioside A had no obvious reproductive toxicity, embryo toxicity and teratogenic effect on Wistar rats.

**Key words** Rebaudioside A; Teratogenic effect; Wistar rats

甜菊糖苷是从菊科植物甜叶菊叶片中提取得到的一类天然的低热量的高倍甜味剂, 其甜度为蔗糖的 250~300 倍, 热量仅为蔗糖的 1/250 左右<sup>[1-2]</sup>。甜菊糖苷因其高甜度、低热量、质地好、无毒副作用等特点, 在食品工业上得到了广泛应用。瑞鲍迪甙 A 是甜菊糖苷中甜度最高的一种糖苷, 甜度约为蔗糖的 450 倍, 纯化的瑞鲍迪甙 A 甜味纯正, 甜味最接近蔗糖, 可作为甜菊糖的精加工高端产品, 在饮料、调味品和供给糖尿病患者食用的蜜饯、果脯中可应用<sup>[3-6]</sup>。

2008 年, 在食品添加剂专家委员会 (JECFA) 第 69 届会议上规定了甜菊糖苷每日允许摄入量 (ADIS), 以甜菊醇表示, ADIS 为 0~4 mg/kg 体重<sup>[7]</sup>。同年, 美国药品食品管理局 (FDA) 批准允许在食品中使用甜叶菊提取物瑞鲍迪甙 A。2012 年, 法国成为欧盟第一个批准在食品和饮料产品内使用高纯度瑞鲍迪甙 A (97%) 的国家<sup>[8]</sup>。据报道, 瑞鲍迪甙 A 在体内主要代谢为甜菊醇<sup>[9]</sup>, 而甜菊醇体外试验中表现出一定的致突变性<sup>[10-11]</sup>, 以及目前瑞鲍迪甙 A 的代谢和毒理方面的资料不完整, 其食用安全性还存在着争议, 国内相关研究也较少。笔者对较高纯度的瑞鲍迪甙 A 进行了大鼠传统致畸试验, 以期为进一步评价其食用 (饲用) 安全性积累资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物 Wistar 大鼠 (清洁级), 10 周龄, 由扬州大学

比较医学中心提供, 动物生产许可证号为 SCXK(苏)2012-0004, 使用许可证号为 SYXK(苏)2012-0029。

**1.2 孕鼠的获得** Wistar 大鼠按雌雄比 1:1 合笼过夜, 次日清晨检查阴道栓, 以见栓的当天为孕 0 d。每组 13 只受精卵鼠, 以保证试验结束时每组妊娠母鼠数不少于 10 只。

**1.3 受试物的给予及染毒剂量** 瑞鲍迪甙 A, 含量  $\geq 97\%$ , 批号为 2012-002P, 由上海永优生物技术公司生产。

瑞鲍迪甙 A 用蒸馏水配制成适宜浓度, 采用灌胃法给予孕鼠, 灌胃体积为 10.0 ml/kg 体重。

瑞鲍迪甙 A 分为 3 400、1 130 和 340 mg/kg b. w. 3 个剂量组; 另设置阴性 (蒸馏水) 对照组。于检栓后第 7~17 天连续给予, 每天 1 次。

**1.4 观察指标** 试验期间每周称取母鼠体重, 观察受孕大鼠的妊娠情况和胚胎发育情况。

在受孕第 20 天处死孕鼠, 取出子宫, 称取窝重、胎盘重, 统计活产幼仔数、死胎以及吸收胎数, 按窝计算活产胎仔平均体重。按照传统致畸试验指导原则<sup>[12]</sup>, 先进行外观畸形检查, 然后进行内脏及软组织畸形检查, 再进行骨骼畸形检查, 最后统计畸胎总数和畸形总数。分析与正常对照组比畸胎率、活胎仔平均畸形率和母体畸胎率的差异性。

**1.5 数据处理** 数据统计与分析采用 SPSS12.0 软件进行, 显著性分析采用 ANOVA 检验或  $\chi^2$  检验。

## 2 结果与分析

瑞鲍迪甙 A 在 340~3 400 mg/kg b. w. 范围内孕鼠行为正常, 无中毒和死亡情况。

由表 1 可知, 试验期间不同处理对孕鼠的体重增加无明显影响 ( $P > 0.05$ )。瑞鲍迪甙 A 对母鼠的生殖机能指标

**基金项目** 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 扬州大学“新世纪人才”工程资助项目。

**作者简介** 王雨晶 (1991-), 男, 江苏南京人, 硕士研究生, 研究方向: 兽医药理及毒理学。\* 通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事药理及毒理学研究。

**收稿日期** 2014-12-23

(黄体数、着床数、活胎率、窝仔数等)与正常对照组无明显差异(表2)。由表3可知,各剂量组平均卵巢重、胎仔平均体重、体长、胎盘重、性别比及吸收胎率等与正常对照组无统计学差异( $P>0.05$ )。瑞鲍迪甙A试验组未出现死胎,在外观畸形、骨骼畸形及内脏畸形检查中畸胎率、活胎仔畸形率及母体畸胎率,与正常对照组无显著差异( $P>0.05$ )。

表1 瑞鲍迪甙A对妊娠大鼠增重的影响

组别	孕鼠数//只	平均日增重//g/只			均值
		0~6 d	7~14 d	15~20 d	
正常对照	10	2.23±0.90	3.17±0.81	6.77±1.75	3.92±0.64
低剂量组	11	2.35±0.84	3.05±1.44	6.98±0.93	4.03±0.87
中剂量组	10	2.17±0.54	3.56±0.30	6.98±1.45	4.10±0.59
高剂量组	12	1.94±0.48	2.98±0.79	6.56±1.00	3.69±0.51

表2 瑞鲍迪甙A对大鼠生殖机能的影响

组别	孕鼠数 只	黄体数 个	着床数 个	活胎数 个	卵巢重 g	总仔数 只	活仔数 只
低剂量组	11	10.55±1.50	10.00±1.45	9.00±1.45	0.12±0.02	99	99
中剂量组	10	9.90±1.52	9.50±1.60	9.30±1.50	0.11±0.02	93	93
高剂量组	12	11.17±1.47	10.67±1.44	9.17±1.53	0.13±0.02	110	110

表3 瑞鲍迪甙A对大鼠的胚胎毒性

组别	孕鼠数//只	总仔数//只	活仔数//只	死仔数//只	吸收胎数//只	吸收胎率//%	死胎率/%	活胎率/%	窝仔数 只	体重 g	体长 cm	尾长 cm	胎盘重 g	雌雄比
低剂量组	11	99	99	0	5	5.05	0	95.19	9.0±1.5	2.31±0.13	3.04±0.04	1.11±0.02	0.59±0.79	0.98/1
中剂量组	10	93	93	0	1	1.08	0	97.89	9.3±1.5	2.53±0.14	3.11±0.07	1.14±0.02	0.70±0.19	0.96/1
高剂量组	12	110	110	0	6	5.45	0	94.83	9.2±1.5	2.60±0.17	3.13±0.09	1.15±0.05	0.63±0.10	0.96/1

注:活胎率(%) = 活胎数/着床数。

### 3 结论与讨论

瑞鲍迪甙A在340~3400 mg/kg b.w. 范围内,对Wistar大鼠无明显生殖毒性及胚胎毒性。该试验中采用的瑞鲍迪甙A剂量分别相当于1/10、1/30和1/100  $LD_{50}$ 。

传统致畸试验是应用试验动物鉴定外来化合物致畸性的最基本的试验,可用于评价受试物作用于妊娠母体,干扰胚胎的正常发育,导致先天性畸形的毒作用。通过致畸试验可以检测受试物导致胚胎死亡、结构畸形及生长迟缓的毒

作用。

Curry等<sup>[13]</sup>对瑞鲍迪甙A进行的亚慢性毒性试验中,也考察了对繁殖性能的影响,包括交配性能、生育能力、妊娠长度、发情周期、精子活力、浓度及形态,结果表明无生殖毒性问题,与该试验的结果一致。鉴于瑞鲍迪甙A的主要代谢物甜菊醇存在着一定的体外致突变作用,对其生殖及胚胎毒性的研究还需要深入研究。

表4 瑞鲍迪甙A对胎鼠的致畸作用

组别	孕鼠数 只	活仔数 只	畸胎数 只	母体畸胎数//只	活胎仔平均畸胎率//%	母体畸胎率//%	畸形情况		
							外观畸形	骨骼畸形	内脏畸形
正常对照	10	94	3	2	3.19	20.00	0	3	0
低剂量组	11	99	2	1	2.02	9.09	0	2	0
中剂量组	10	93	3	2	3.23	20.00	0	3	0
高剂量组	12	110	5	2	4.55	16.67	0	5	0

### 参考文献

- [1] 胡献丽,董文宾,郑丹,等.甜菊及甜菊糖研究进展[J].食品研究与开发,2005,26(1):36-38.
- [2] 孙传范,李进伟.甜菊糖苷研究进展[J].食品科学,2010,31(9):338-340.
- [3] SUSANN ZAHN, ANNE FORKER, LYDIA KRÜGEL, et al. Combined use of rebaudioside A and fibres for partial sucrose replacement in muffins[J]. LWT-Food Sci Technol, 2013, 50:695-701.
- [4] 路勇,胡国华.莱鲍迪A苷的研究进展[J].添加剂与营养,2012(6):50-51.
- [5] WANG L S, SHI Z, SHI B M, et al. Effects of dietary stevioside/rebaudioside A on the growth performance and diarrhea incidence of weaned piglets[J]. Animal Feed Sci Technol, 2014, 187:104-109.
- [6] 杨旭艳,路勇,胡国华.新型天然高倍甜味剂-莱鲍迪苷A[J].中国食品添加剂,2012(37):77-81.
- [7] JECFA/69/SC, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Sixty-ninth meeting[R]. Italy; Summary and Conclusion Rome, 2008.
- [8] 法国提高食品中添加甜菊糖苷的限量[J].饲料工业,2010,13(2):6.
- [9] ROBERTS A, RENWICK A G. Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside and steviol in rats[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(S7):31-39.
- [10] SUTAJIT M, VINIKETKAUMNUEN U, MEEVATEE U, et al. Mutagenicity and human chromosomal effect of stevioside, a sweetener from Stevia rebaudiana Bertoni[J]. Environ Health Perspec, 1993, 101:53-56.
- [11] MATSUI M, MATSUI K, KAWASAKI Y, et al. Evaluation of the genotoxicity of stevioside and steviol using six in vitro and one in vivo mutagenicity assays[J]. Mutagenesis, 1996, 11:573.
- [12] 中华人民共和国农业部公告第1247号,兽药大鼠传统致畸试验指导原则[S].2009.
- [13] CURRY L L, ROBERTS A. Subchronic toxicity of rebaudioside A[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46:1-20.