

文章编号: 1674-7054(2016)01-0128-04

灵芝安全性研究进展

兰宁宁^{1,2}, 马青云¹, 黄圣卓¹, 孔凡栋¹, 戴好富¹, 吴友根², 赵友兴¹

(1. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海口 571101;

2. 海南大学 园艺园林学院, 海口 570228)

摘要: 灵芝为灵芝科灵芝属大型真菌, 其药用部位子实体在我国已有两千多年的使用历史, 灵芝属中赤芝和紫芝收载于中国药典, 但未纳入药食同源的目录。灵芝安全性是其能否纳入药食同源目录的关键问题, 为此, 笔者综述了灵芝安全性相关研究, 包括急性毒性、长期毒性、遗传毒性以及灵芝化学成分的毒理研究, 为灵芝资源纳入药食同源目录提供参考资料。

关键词: 灵芝; 安全性评价; 研究进展

中图分类号: S 459

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2016.01.022

灵芝是中华民族祖先在古代就认识并认为是滋补强壮、扶正培本的珍贵药品, 具有两千多年的使用历史, 其药用价值自古就有记载, 东汉《神农本草经》, 东晋葛洪的《抱朴子》, 唐朝苏敬的《新修本草》, 梁代陶弘景的《神农本草经集注》和《名医别录》以及明朝李时珍的《本草纲目》等著作均记载了灵芝功效。灵芝是一个天然的生物活性成分库^[1], 具有广泛的药理活性, 已用于临床治疗^[2]。我国灵芝科真菌资源丰富, 有103种^[3], 其中药用的有23种^[4]。2000年版《中国药典》中首次收载灵芝的药用价值, 作为法定中药材的是赤芝(*Ganoderma lucidum*)与紫芝(*Ganoderma sinensis*)的干燥子实体。迄今灵芝资源一直未纳入药食同源的目录, 只是在卫法监发(2001)84号附件中将3种灵芝(赤芝、紫芝和松杉灵芝 *Ganoderma tsugae*)列入“可用于保健食品的真菌菌种名单”, 可作为保健食品开发原料。自古以来我国就有食用灵芝的传统, 现代许多灵芝原料及其产品如灵芝胶囊、灵芝酒、灵芝茶、灵芝饮料等已流向寻常百姓消费市场, 被大众消费者接纳为普通食品, 灵芝作为普通食品管理的呼声也越来越高。灵芝只有纳入药食同源目录, 才能进行灵芝普通食品相关产品的开发, 灵芝的安全性是其能否纳入药食同源目录的关键问题。笔者就灵芝及其相关产品的安全性研究包括急性毒性、长期毒性、遗传毒性以及灵芝化学成分的毒理研究等进行综述, 为灵芝纳入药食同源目录提供参考资料。

1 灵芝的急性毒性

急性毒性是评价灵芝及其产品安全性的一个主要指标, 主要是通过测定灵芝的小鼠急性经口半数致死量(LD₅₀)来反映灵芝的急性毒性。目前国内外灵芝类产品的急性经口毒性试验的LD₅₀均大于10 g·kg⁻¹, 未见明显毒性反应症状, 属于实际无毒级。

1.1 孢子粉与孢子油 灵芝孢子粉是最常见的灵芝产品, 采用福建仙芝楼生物科技有限公司提供的灵芝孢子粉胶囊(批号: 20050201, 内容物呈棕色粉末状, 品种为赤芝孢子)内容物进行急性毒性实验, 结果显示该产品小鼠经口LD₅₀ > 10 g·kg⁻¹, 未显示有毒性作用, 表明灵芝孢子粉胶囊基本无毒^[5]。陈体强等使用从南斯拉夫贝尔格莱德大学引进的薄盖灵芝菌株发酵培养所得的薄盖灵芝菌粉进行急性及亚急

收稿日期: 2015-10-21

基金项目: 海南省自然科学基金面上项目(20152035); 公益性行业(农业)科研专项(201303117); 中央级公益性科研院所基本科研业务费(ITBB2015ZD02)

作者简介: 兰宁宁(1990-), 女, 海南大学园艺园林学院2014级硕士研究生, E-mail: buda949575956@qq.com

通信作者: 赵友兴(1974-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 活性天然产物化学, E-mail: zhaoyouxing@itbb.org.cn

吴友根(1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 南药资源开发利用, E-mail: wygeng2003@163.com

性毒性的实验结果表明,薄盖灵芝菌粉口服安全无毒,无致突变作用,对小白鼠的 $LD_{50} > 20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,属实际无毒级,对大白鼠的生长发育无不良影响^[6]。河南三门峡灵芝基地的灵芝孢子粉的急性毒性试验结果显示,小鼠经口服 $LD_{50} > 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,属无毒级^[7]。研究将乐县菌草灵芝生物工程有限公司生产的菌草灵芝孢子粉胶囊(批号:20040926,规格:0.15 g·粒)的急毒实验结果显示,菌草灵芝孢子粉以 $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量对20只小鼠灌胃7 d后,小鼠未见明显中毒症状,无死亡,对小鼠的急性毒性 $LD_{50} > 15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,属于无毒级^[8]。

灵芝孢子油是由灵芝孢子粉提取而得到的灵芝产品。李学敏等^[9]使用破壁灵芝孢子油进行急性毒性实验结果表明,破壁灵芝孢子油对雌雄小鼠经口 $LD_{50} > 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,为实际无毒级物质,因此,破壁灵芝孢子油是一种安全而且具有很高的药用和食用价值的物质。

1.2 孢子合剂 灵芝孢子合剂为原木灵芝破壁孢子粉和原木灵芝浸膏粉1:1混合而成,灵芝子实体和孢子粉均使用的是赤芝6号^[10]。对昆明种小鼠口饲灵芝孢子合剂的观察结果表明,灵芝孢子合剂对雌雄昆明种小鼠经口 $LD_{50} > 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,且无任何病变、致突变作用,对SD大白鼠生长发育无不良影响,属实际无毒物;口饲不同剂量(3, 10, 33 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)的孢子合剂,昆明种小鼠S-180和H-22瘤重均显著低于对照组,高剂量组抑瘤率S-180为34.8%~39.7%和H-22为32.5%~37.7%;而BALB/C小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率及脾脏自然杀伤细胞活性均明显高于对照组,这显示灵芝孢子合剂口服安全且无毒副作用,具有抑制肿瘤和免疫调节作用^[11]。

1.3 浓缩灵芝胶囊 陈新霞等^[12]对南京百渊食品有限公司提供的浓缩灵芝胶囊进行急性毒性实验,经口灌胃(剂量为 $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)观察1周的结果表明,染毒后各剂量组小鼠均未见明显异常反应及死亡,雌雄小鼠 $LD_{50} > 21.54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,根据化学品急性毒性分级标准,该浓缩灵芝胶囊属于无毒级。

1.4 灵芝原浆 张杰等^[13]对河南省中药研究所提供的灵芝原浆(20%浓度提取液)进行急性毒性实验,采用剂量为2.15, 6.4, 10.0, 21.54 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的灵芝原浆经口灌胃,观察中毒表现并记录7 d内死亡数量,结果显示各剂量组灌胃后无中毒表现,7 d内无死亡现象,雌雄小鼠 $LD_{50} > 9.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以100%灵芝原浆计),表明灵芝原浆无急性毒性。

2 灵芝的长期毒性

2.1 灵芝胶囊 高建波等^[14]对天津现代医药开发研究所提供的灵芝胶囊(批号8030,规格为280 mg·粒,临床用量为2次·d,2粒·次)进行长期毒性实验研究,采用不同剂量(1.87, 0.94, 0.47 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给大鼠灌胃连续给药26周后测试大鼠体质量、尿液、血液学常规、血液生化、脏器系数及病理组织学变化,结果表明:各剂量组的大鼠发育正常,各项检测指标未见与用药相关的异常变化,主要脏器病理形态也未出现毒性病变,表明灵芝胶囊长期服用安全。黄宗锈等^[15]使用灵芝胶囊内容物(每人每日推荐量为6.0 g)按受试物每人日推荐用量6.0 g的50, 100, 200倍,即5.0, 10.0, 20.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组,对SD大鼠进行30 d喂养的试验结果表明,各剂量组大鼠每周体质量的生长与对照组相比均无明显差异,其血红蛋白含量、红细胞、白细胞计数等与阴性对照组均在正常值范围内,表明长期服用灵芝胶囊产品无不良影响。

2.2 灵芝孢子粉 欧棋华等^[16]对福建省健神生物工程有限公司提供的灵芝孢子粉进行长期毒性实验,实验设3个剂量组,分别为1.12, 2.25, 4.50 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,对大鼠进行单笼喂养,各组按0.01 mL· g^{-1} 剂量灌胃,连续30 d。实验结果表明:各剂量组的大鼠的脏器系数与阴性对照组无显著性差异,对肝、肾、胃、肠、脾、睾丸、卵巢作病理组织学检查未发现特异性病变,说明灵芝孢子粉对大鼠未见明显的长期毒性。吴黎敏^[17]测定该灵芝孢子粉长期毒性(30 d)的结果也显示大鼠各项生化指标、血常规均在正常值范围内,对受检脏器未见特异性病变,得出了灵芝孢子粉4.50 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量大鼠连续服用30 d为无毒剂量的结论。

2.3 灵芝颗粒剂 龚彬荣等^[18]针对浙江大德制药有限公司提供的灵芝颗粒剂(批号011201)进行了长期毒性检测,选取40, 20, 10 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量按0.01 mL· g^{-1} 灌胃给药,连续3个月,观察体质量、血常规、血液生化、脏器指数和病理组织学变化。实验结果显示灵芝颗粒剂的3种不同剂量组未出现明显的毒性,在上述剂量下连续服用3个月是安全的。

2.4 灵芝软胶囊 傅颖等^[19]使用浙江某保健品有限公司提供的灵芝软胶囊(0.5 g·粒,褐色内容物,人体推荐摄入量为2.0 g·人·d)对小鼠进行了30 d喂养试验,实验结果显示大鼠在生长发育、血液学、血液生化、脏器比及组织病理学方面未见异常的变化,灵芝软胶囊在此实验剂量范围内是安全的。

3 灵芝的遗传毒性

一般的遗传毒性试验包括鼠伤寒沙门氏菌、哺乳动物微粒体酶试验、小鼠骨髓微核率测定或骨髓细胞染色体畸变分析、小鼠精子畸形分析和睾丸染色体畸变分析、传统致畸试验等。

3.1 灵芝浸提液 孟国良等^[20]使用市售的赤芝浸提液分别做了成年小鼠遗传毒性和孕鼠及其胎鼠的遗传效应的2组实验,经抽取小鼠肝脏血液制片观察,通过统计学分析发现,实验组与阳性组相比表现了显著差异,与正常组比较无显著性差异,证明灵芝浸提液是无遗传毒性的。

3.2 灵芝孢子粉与孢子油 李晔等^[5]使用福建仙芝楼生物科技有限公司提供的灵芝孢子粉胶囊(批号:20050201)进行遗传毒性研究,在Ames试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验中均呈阴性反应,未显示有遗传毒性作用,表明其基本无毒性。孙晓明等^[7]对河南三门峡灵芝基地的赤芝进行鼠伤寒沙门氏菌、哺乳动物微粒体酶试验、骨髓微核试验及小鼠精子畸变试验,结果显示无突变作用和致突变作用,对生殖细胞也无致突变作用。破壁灵芝孢子粉通过微核试验、精子畸形试验和Ames试验发现破壁灵芝孢子粉处理的各剂量组小鼠的骨髓细胞微核形成率和精子畸形率都未出现明显增加;在加和不加代谢活化系统条件下,破壁灵芝孢子粉处理的各剂量组的鼠伤寒沙门氏菌未出现恢复突变率升高情况,表明破壁灵芝孢子粉不具有直接或间接的致突变作用,也未发现其具有遗传毒性^[21]。破壁灵芝孢子油的骨髓嗜多染红细胞微核实验与精子畸形实验均未发现破壁灵芝孢子油对小鼠有致突变作用^[9]。

3.3 灵芝子实体提取物 对野生灵芝子实体的热水提取物进行小鼠腹腔内注射,并在24h后检测淋巴细胞,评估小鼠急性、亚慢性细胞毒性和体内基因毒性,结果表明相较于啮齿动物食物,灵芝提取物是一个温和的饮食补充,没有发现任何提取物的遗传毒性导致染色体断裂的证据^[22]。

3.4 灵芝软胶囊 傅颖等对灵芝软胶囊的遗传毒理学实验(Ames试验、小鼠骨髓微核试验、小鼠精子畸形试验)显示雌雄小鼠经口最大耐受剂量(MTD)均大于 $20.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,Ames试验、小鼠骨髓微核试验、小鼠精子畸形试验3项遗传毒性试验结果均为阴性,未出现遗传毒性^[19]。

4 灵芝对生物细胞的作用

灵芝三萜是灵芝中最主要的活性物质,研究发现灵芝三萜是比较有效的胆汁酸受体(FXR,其核心功能是维持生理的胆汁酸稳态,包括葡萄糖和脂质代谢的调节)的配体^[23]。使用小白鼠的脾淋巴细胞对总三萜进行毒性评估,结果为即使暴露于总三萜中72h,脾淋巴细胞仍然是存活的,说明总三萜是无毒的^[24]。灵芝总三萜的抗辐射作用的研究结果表明,总三萜类化合物可以有效地预防辐射对脾淋巴细胞的损伤^[24]。灵芝酸是灵芝主要苦味物质,研究显示灵芝酸对RAW264.7小鼠巨噬细胞无任何细胞毒性作用^[25]。

灵芝胶囊是市场上常见的灵芝产品,对其临床研究显示:老年志愿者口服灵芝胶囊后,66例受试者的NK细胞自然杀伤率和T淋巴细胞亚群(CD3+,CD4+,CD8+)百分率均在正常值范围内^[26],表明灵芝胶囊是安全的。

5 展望

中国蕴藏了丰富的灵芝资源,已发现有103种^[3]。目前国内分布的多种灵芝具有药用价值并被民间广泛开发利用,已有23种灵芝作为药用真菌^[4],大多数属于灵芝属真菌,其中只有赤芝和紫芝收载于中国药典,迄今灵芝资源一直未纳入药食同源的目录。安全、有效、质量可控是中药材的三大属性,灵芝的安全性一直是其能否纳入药食同源目录的关键问题。目前市场上灵芝类食品层出不穷,并且质量良莠不齐,多数产品不符合国家规定,缺乏安全性评价和质量控制。今后应加强灵芝的安全性评价研究,尤其应研究未见安全性评价的野生灵芝资源,挖掘安全灵芝种质资源,实现质量可控的产业化。为了促进和规范灵芝产业,提升灵芝产品质量,推动地方经济可持续发展,各灵芝产地政府部门和企业也在调研的基础上积极提议将灵芝列为普通食品或药食两用原料。许多著名医药典籍记载灵芝可药食兼用且无毒,现代动物毒理研究也显示灵芝是安全无毒的。在日本、韩国、台湾、香港、东南亚等国家和地区灵芝也被广泛用于食品行业。灵芝生物多样性显著的海南省一直将灵芝作为平常的食材食用(煮水、煲汤、泡酒),食用具有普遍性,已被大众接受为普通食品。目前灵芝人工栽培产量大,作为药材出现滞销现象。对于规范化种植和质量可控的灵芝资源在安全评价基础上可考虑列入药食同源目录并规范管理,合理发展和壮大灵芝产业。

参考文献:

- [1] Russell R, Paterson M. *Ganoderma*—A therapeutic fungal biofactory [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(18): 1985–2001.
- [2] 林志彬. 灵芝的现代研究[M]. 3 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2007.
- [3] 吴兴亮, 戴玉成. 中国灵芝图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [4] 吴兴亮, 卯晓岚, 图力古尔, 等. 中国药用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [5] 李晔, 肖志勇, 林蔚, 等. 灵芝孢子粉胶囊急性毒性及遗传毒性实验研究[J]. *天津药学*, 2007, 19(12): 3–6.
- [6] 陈体强, 李开本, 方忠王, 等. 薄盖灵芝菌粉主要成分分析及安全毒理学试验[J]. *中国食用菌*, 2004, 22(4): 39–41.
- [7] 孙晓明, 张卫明, 吴素玲, 等. 灵芝孢子粉食品毒理学安全性评价[J]. *中国野生植物资源*, 2000, 19(2): 7–9.
- [8] 王宫, 王瑾, 郭建国. 菌草灵芝孢子粉胶囊的毒理学安全性评价[J]. *福建中医药大学学报*, 2012, 22(3): 44–46.
- [9] 李学敏, 武镗, 席小平, 等. 破壁灵芝孢子油急性毒性与致突变性的研究[J]. *中国药物与临床*, 2006, 6(2): 108–110.
- [10] 李开本, 陈体强, 何修金, 等. 短段木灵芝优质高产菌株“赤芝 6 号”研究初报[J]. *福建农学院学报*, 1996, 11(3): 1–6.
- [11] 朱培根, 陈体强, 蔡云, 等. 灵芝孢子合剂的安全性毒理学及保健功能评价[J]. *食用菌*, 2000, 7(3): 37–42.
- [12] 陈新霞, 石根勇, 吴金龙, 等. 浓缩灵芝胶囊急性毒性及致突变性研究[J]. *江苏预防医学*, 1996(3): 16–18.
- [13] 张杰, 贾淑贞, 刘苹峨, 等. 灵芝原浆的毒性和诱变性研究[J]. *河南卫生防疫*, 1998(3): 58–59.
- [14] 高建波, 韩晶. 灵芝胶囊大鼠长期毒性实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(4): 972–974.
- [15] 黄宗锈, 陈冠敏, 刘少娟. 灵芝胶囊的安全性毒理学研究[J]. *预防医学情报杂志*, 2001, 17(3): 212–213.
- [16] 欧棋华, 林蔚, 林健. 灵芝孢子粉大鼠长期毒性研究[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(22): 1784–1785.
- [17] 吴黎敏. 灵芝孢子粉对大鼠长期毒性研究[J]. *福建中医学院学报*, 2005, 15(6): 25–27.
- [18] 龚彬荣, 尤卫民, 何忠平, 等. 灵芝颗粒剂对大鼠的长期毒性试验[J]. *中药药理与临床*, 2003, 19(5): 29–31.
- [19] 傅颖, 梅松, 刘冬英, 等. 灵芝软胶囊的毒性研究与安全性评价[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(12): 3256–3257.
- [20] 孟国良, 李凤玲, 李新政. 灵芝浸提液的遗传毒性研究[J]. *食用菌*, 1997(4): 7.
- [21] 李志, 杨颖, 张静, 等. 破壁灵芝孢子粉致突变性的初步研究[J]. *江西医药*, 2013, 48(4): 300–302.
- [22] Qiu S W, Wang Z M, Liang T M, et al. Nutritional value of *Ganoderma lucidum* extract and its genetic toxicity was evaluated and the use of the comet assay for the anti gene toxicity of mouse lymphocytes [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2000, 38(2/3): 173–178.
- [23] Ulrike G, Judit M, Daniela S. Pharmacophore-based discovery of FXR-agonists. Part II: Identification of bioactive triterpenes from *Ganoderma lucidum* [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2011, 19(22): 6779–6791.
- [24] Sminaa T P, Stryo D E. *Ganoderma lucidum* total triterpenes prevent radiation-induced DNA damage and apoptosis in splenic lymphocytes in vitro [J]. *Mutation Research*, 2011, 726(2): 188–194.
- [25] Li W J, Nie S P, Liu X Z, et al. Antimicrobial properties, antioxidant activity and cytotoxicity of ethanol-soluble acidic components from *Ganoderma atrum* [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(3/4): 689–694.
- [26] 梁渊, 丁克祥, 徐顺清, 等. 灵芝胶囊对免疫系统的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2003, 23(1): 61–62.

Research Advances in Safety of *Ganoderma*

LAN Ningning^{1,2}, MA Qingyun¹, HUANG Shengzhuo¹, KONG Fandong¹,
DAI Haofu¹, WU Yougen², ZHAO Youxing¹

(1. Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops/ Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, HainanHa 571101, China; 2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: The fruiting bodies of genus *Ganoderma* are their officinal organs, which have been widely used in China for over 2 000 years. Two *Ganoderma* species, *G. lucidum* and *G. sinense*, are listed in Chinese pharmacopoeia, but not included in the Medicinal and Edible Sources Directory. The safety of genus *Ganoderma* is the key issue to be recorded in the Medicinal and Edible Sources Directory. This paper reviews the safety assessment research of *Ganoderma* including acute toxicity, long-term toxicity, genetic toxicity, and the toxicology of chemical compositions from *Ganoderma*, which may provide references for its entry into the Medicinal and Edible Sources Directory.

Keywords: *Ganoderma*; safety assessment; research advance