

复合虾青素增强免疫力功能评价

张梦麒^{1,2}, 赵道强^{1,2}, 柴琬瑛^{1,2}, 颜宏^{1,2}, 周理强^{1,2}, 吴德松^{1,2*}

(¹ 云南省药物研究所 昆明 650111)

(² 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室 昆明 650111)

摘要 目的:评价复合虾青素增强免疫力的功能。方法:采用刀豆蛋白(ConA)诱导小鼠脾淋巴细胞转化试验、2,4-二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发型耳肿(DTH)试验、抗体生成细胞数测定、血清溶血素生成试验、碳粒廓清试验和NK细胞活性测定试验,综合评价复合虾青素的增强免疫力功能。结果:与溶媒对照组相比,虾青素油、复合虾青素均可明显提升动物脾淋巴细胞增殖水平和小鼠迟发性耳肿水平,细胞免疫功能测定结果阳性,且复合虾青素活性优于虾青素油;与溶媒对照组相比,虾青素油、复合虾青素组溶血空斑数和血清抗体水平明显增加,体液免疫功能测定结果阳性,且复合虾青素活性优于虾青素油;与溶媒对照组相比,虾青素油、复合虾青素对小鼠碳粒廓清和NK细胞活性均无明显影响,单核-巨噬细胞功能、NK细胞活性测定结果阴性。结论:复合虾青素具有增强免疫力的功能。

关键词 雨生红球藻提取物; 虾青素; 美藤果油; 火麻仁油; 增强免疫力

文章编号 1009-7848(2022)05-0103-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.05.012

雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)是一种淡水单细胞绿藻,在特定条件下会积累大量的虾青素,含量可达细胞干重的1.5%~4.0%^[1],为虾青素的主要天然来源之一。虾青素是一种酮式类胡萝卜素,化学名:3,3'-二羟基-4,4'-二酮基- β , β' -胡萝卜素^[2],具有极强的抗氧化活性,比维生素E高约500倍,被认为是“超级维生素E”^[3],在保健食品和动物饲料添加剂市场应用广阔。现代药理学研究表明,天然虾青素除具有极强的抗氧化活性外,还具有缓解视疲劳^[4]、降血糖^[5]、降血脂^[6]、缓解放力疲劳^[7]、增强免疫力^[8-12]等多种活性。美藤果(*Plukenetia volubilis* L.)属大戟科美藤果属多年生木质藤本植物,2013年1月4日我国卫生部正式公告美藤果油被批准为新资源食品。现代药理学研究结果证实:美藤果油具有辅助改善记忆^[13]、降血脂^[14-16]、抗氧化^[17]和增强免疫力^[18-19]等功效。火麻仁为桑科植物大麻(*Cannabis sativa* L.)的干燥成熟果实,卫法监发[2002]51号文件《卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知》中规定,火麻仁属于既是食品又是药品的原料。现代药理学研究表明,火麻仁油具有治疗便秘^[20-21]、

抗氧化^[22]、降血脂^[23]、改善记忆^[24]和增强免疫力^[25-26]等功效。

文献调研结果提示,虾青素、美藤果油和火麻仁油在增强免疫力功能上存在一定的交叉和互补,它们的科学组合可能具有提升原有单一成分功效的效果。虾青素油为油状物,较为黏稠,具有对光敏感、遇热不稳定、易氧化等特性,在配方中添加食用油,可对虾青素油进行稀释,便于生产,提高成品得率;还可进一步提高虾青素在产品中的稳定性,防止虾青素在保存过程中过度氧化引发的生物活性下降。

基于上述考虑,本文以虾青素油、美藤果油和火麻仁油为原料制备复合虾青素,并参照《允许保健食品声称的保健功能目录 非营养素补充剂(2020年版)(征求意见稿)》^[27]的相关要求,对其增强免疫力功能进行综合评价。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 供试品 复合虾青素,成人推荐每日用量为1g/d;深红色油状物,主要活性成分为虾青素油、美藤果油和火麻仁油,由云南省药物研究所制剂研究室提供,4℃避光保存。

1.1.2 试验动物 SPF级C57BL/6J小鼠,体重18~22g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,实

收稿日期:2021-05-11

项目基金:云南省生物医药重大专项(2018ZF013)

作者简介:张梦麒(1987—),男,硕士,工程师

通信作者:吴德松 E-mail:wudesong14@163.com

验动物生产许可证号:SCXK(辽)2015-0001。实验动物使用许可证:SYXK(滇)K2017-0004,发证单位:昆明市科技局。

1.1.3 细胞株 YAC-1 小鼠淋巴瘤细胞,购自中国科学院昆明动物研究所细胞库。

1.1.4 主要试剂 胎牛血清(FBS)、RPMI 1640 培养液,Gibco 公司;刀豆蛋白(ConA)、噻唑蓝(MTT),Sigma 公司;2,4-二硝基氟苯(DNFB),东京化成工业株式会社;印度墨汁、绵羊红细胞(SR-BC)、琼脂糖,北京索来宝科技有限公司;乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

SQP 型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;JJ2000 型电子天平,常熟市双杰测试仪器厂;DMIL-LED 型荧光倒置相差显微镜,莱卡公司;AC2-6S1 型二级生物安全柜、CCL-170A-8 型 CO₂ 恒温培养箱,ESCO 公司;Multiskan Go 型全波长酶标仪,Thermo 公司;GNP-9270 隔水式恒温培养箱,上海精宏实验设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 溶媒对照 受试样品的溶媒为食用玉米油。

1.3.2 剂量设定 根据复合虾青素人体推荐剂量,即成人每日推荐剂量为 16.7 mg/kg(成人体重以 60 kg 计算),分别以成人每日推荐用量的 10 倍、20 倍和 30 倍作为小鼠的饲喂剂量,分别为 167,334 和 501 mg/kg。

虾青素油的饲喂剂量根据复合虾青素高剂量进行设计,设定为 300 mg/kg。

1.3.3 试验方法 参照《允许保健食品声称的保健功能目录 非营养素补充剂(2020 年版)(征求意见稿)》进行功能评价。其中,细胞免疫功能测定采用 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验(MTT 法)和 DNFB 诱导的小鼠迟发型变态反应(耳肿胀法);体液免疫功能测定采用抗体生成细胞检测(Jerne's 改良玻片法)和血清溶血素测定(血凝法);单核巨噬细胞功能测定采用小鼠碳廓清试验;NK 细胞活性测定采用乳酸脱氢酶(LDH)测定法。

1.3.4 动物分组、给药和指标测定 取 SPF 级雄

性 C57BL/6J 小鼠,按体重分层,随后随机分为溶媒对照组、虾青素组、复合虾青素低、中、高剂量组,每组 12 只。自分组后开始,受试组动物均以 20 mL/kg 饲喂体积灌胃给予相应样品,溶媒对照组给予等体积玉米油,1 次/d,连续 30 d。各项功能测定试验相关指标测定方法参照《允许保健食品声称的保健功能目录 非营养素补充剂(2020 年版)(征求意见稿)》进行,并对结果进行统计学分析。

1.3.5 评价标准 在细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能及 NK 细胞活性 4 个方面测定中,任 2 个方面试验结果为阳性,可以判定该受试样品具有增强免疫力作用。其中细胞免疫功能测定项目中 2 个试验的结果均为阳性,判定细胞免疫功能试验结果阳性。体液免疫功能测定项目中 2 个试验的结果均为阳性,判定体液免疫功能试验结果阳性。单核-巨噬细胞功能测定项目中 2 个试验的结果均为阳性,判定单核-巨噬细胞功能试验结果阳性。NK 细胞活性测定试验的一个以上剂量结果阳性,判定 NK 细胞活性结果阳性。

1.3.6 统计学方法 试验结果以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据处理。经正态性检验和方差齐性检验,满足正态分布和方差齐后作单因素方差分析,组间差异用 LSD 法进行比较,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 对 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化的影响

试验结果显示,与溶媒对照组相比,虾青素油、复合虾青素 334 mg/kg 和 501 mg/kg 剂量组动物脾淋巴细胞增殖水平明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与虾青素油组相比,复合虾青素 334 mg/kg 和 501 mg/kg 剂量组动物脾淋巴细胞增殖水平明显升高($P<0.01$),结果见表 1。

2.2 对 DNFB 诱导的小鼠迟发型耳肿的影响

试验结果显示,与溶媒对照组相比,虾青素油、复合虾青素 167,334,501 mg/kg 剂量组动物耳肿胀度均明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与虾青素油组相比,复合虾青素 167,334 mg/kg 和 501 mg/kg 剂量组动物耳肿胀度均明显增加($P<0.05$),结果见表 2。

表 1 复合虾青素对 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)Table 1 Effects of compound astaxanthin on splenic lymphocyte proliferation induced by ConA in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g		脾淋巴细胞增殖 ΔOD_{570nm}
		给药 0 d	给药 30 d	
溶媒对照组	-	19.63 ± 1.34	23.89 ± 1.36	0.32 ± 0.03
虾青素油	300	19.54 ± 1.27	23.28 ± 1.20	0.35 ± 0.04*
复合虾青素	167	19.88 ± 1.36	23.77 ± 1.59	0.35 ± 0.04
	334	19.50 ± 1.11	23.94 ± 1.52	0.42 ± 0.06***▲
	501	19.41 ± 0.65	23.50 ± 1.82	0.43 ± 0.05***▲

注:与溶媒对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与虾青素油组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

2.3 对小鼠抗体生成的影响

试验结果显示,与溶媒对照组相比,虾青素油

和复合虾青素 167,334,501 mg/kg 剂量组动物溶

血空斑数明显增加($P < 0.05$),结果见表 3。

表 2 复合虾青素对 DNFB 诱导的小鼠迟发型耳肿的影响($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effects of compound astaxanthin on DNFB-induced delayed ear edema in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g		耳肿胀度/mg
		给药 0 d	给药 30 d	
溶媒对照组	-	18.80 ± 1.05	23.45 ± 1.18	7.37 ± 2.23
虾青素油	300	18.99 ± 0.85	23.04 ± 1.17	9.25 ± 1.83*
复合虾青素	167	18.87 ± 0.54	23.16 ± 0.56	10.96 ± 2.00**▲
	334	19.03 ± 1.28	22.94 ± 1.48	11.28 ± 2.62**▲
	501	18.41 ± 0.73	22.50 ± 1.63	11.17 ± 2.27**▲

注:与溶媒对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与虾青素油组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

表 3 复合虾青素对小鼠抗体生成的影响($\bar{x} \pm s$)Table 3 Effects of compound astaxanthin on antibody production in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g		溶血空斑数 $\times 10^3$ /全脾细胞
		给药 0 d	给药 30 d	
溶媒对照组	-	20.44 ± 0.98	25.48 ± 1.88	170.59 ± 48.09
虾青素油	300	20.23 ± 1.23	25.16 ± 1.78	233.25 ± 80.17*
复合虾青素	167	20.59 ± 1.54	24.35 ± 1.54	218.33 ± 59.12*
	334	20.27 ± 1.39	25.20 ± 1.76	230.76 ± 65.34*
	501	20.68 ± 0.96	25.07 ± 1.99	238.57 ± 70.41*

注:与溶媒对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与虾青素油组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

2.4 对小鼠血清溶血素生成的影响

试验结果显示,与溶媒对照组相比,复合虾青素 167 mg/kg 和 334 mg/kg 剂量组动物血清抗体水平明显增加($P < 0.01$),复合虾青素 501 mg/kg 剂量组动物血清抗体水平明显增加($P < 0.01$),结果见表 4。

2.5 对小鼠碳粒廓清能力的影响

试验结果显示,与溶媒对照组相比,虾青素油

和复合虾青素各剂量组动物吞噬指数 α 均无明显变化($P > 0.05$),结果见表 5。

2.6 对 NK 细胞活性的影响

试验结果显示,与溶媒对照组相比,虾青素油和复合虾青素各剂量组动物 LDH 活力均无明显变化($P > 0.05$),结果见表 6。

表4 复合虾青素对小鼠血清溶血素生成的影响($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effects of compound astaxanthin on serum hemolysin production in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g		抗体水平
		给药 0 d	给药 30 d	
溶媒对照组	-	19.23 ± 2.38	24.12 ± 2.36	36.58 ± 9.10
虾青素油	300	19.16 ± 2.01	24.48 ± 1.60	53.75 ± 14.27**
复合虾青素	167	19.30 ± 1.11	23.99 ± 1.40	64.58 ± 9.86**▲
	334	19.22 ± 1.22	24.11 ± 1.97	71.33 ± 13.26**▲▲
	501	18.97 ± 0.98	24.30 ± 1.25	67.17 ± 7.69**▲▲

注:与溶媒对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与虾青素油组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

表5 复合虾青素对小鼠碳粒廓清的影响($\bar{x} \pm s$)Table 5 Effects of compound astaxanthin on carbon clearance in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g		吞噬指数 α
		给药 0 d	给药 30 d	
溶媒对照组	-	21.76 ± 1.29	24.32 ± 2.40	4.72 ± 0.72
虾青素油	300	21.59 ± 1.25	24.46 ± 2.66	4.80 ± 1.11
复合虾青素	167	22.15 ± 1.18	24.25 ± 2.91	4.87 ± 0.41
	334	21.82 ± 1.22	24.30 ± 2.57	4.88 ± 0.48
	501	21.60 ± 1.56	23.99 ± 1.57	4.85 ± 0.54

注:与溶媒对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与虾青素油组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

表6 复合虾青素对小鼠NK细胞活性的影响($\bar{x} \pm s$)Table 6 Effect of compound astaxanthin on the activity of mouse NK cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g		LDH 活力/U·L ⁻¹
		给药 0 d	给药 30 d	
溶媒对照组	-	20.01 ± 1.05	23.49 ± 1.38	287.73 ± 38.20
虾青素油	300	20.11 ± 1.15	24.33 ± 2.01	280.35 ± 42.14
复合虾青素	167	20.20 ± 1.22	24.06 ± 1.52	270.02 ± 38.06
	334	20.30 ± 1.19	23.84 ± 2.10	287.38 ± 33.73
	501	20.16 ± 1.23	23.83 ± 1.95	273.46 ± 44.96

注:与溶媒对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与虾青素油组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

3 讨论

免疫是人体的一种正常的生理功能,机体依靠这种功能识别和清除进入人体的抗原物质(如病原微生物、寄生虫等)或人体自身所产生的衰老、损伤、死亡和突变细胞等,以维持人体内环境的稳态,保持机体的健康。当人体免疫功能减退时,机体的识别和监视能力下降,导致机体无法及时、有效地清除有害因素,从而诱导疾病的发生。近年来,由于环境污染加剧、生活节奏的加快和不健康的生活方式等因素的影响,处于亚健康状态的人群范围逐渐扩大,机体免疫功能低下的人群

有逐年增加的趋势,其年龄范围也逐渐从中老年人向年轻人扩散。人体免疫功能低下最直接的表现就是对疾病的抵抗力下降,导致部分疾病反复发作。由于免疫功能低下者经常患病,加重了机体的消耗,所以免疫功能低下者一般还有体质虚弱、精神萎靡、疲乏无力、食欲降低、睡眠障碍等表现,严重影响人们的生活和工作。因此,开发一款具有维持人体正常免疫功能的保健食品具有较好的现实意义和社会价值。

通过前期文献调研,本文在虾青素油的基础上添加了美藤果油和火麻仁油,制备成复合虾青

素,并对其增强免疫力功能进行了综合评价,也与单独使用虾青素油的功效进行了对比。研究结果显示:虾青素油和复合虾青素均可明显提升小鼠脾淋巴细胞增殖水平、显著提升小鼠迟发性耳肿胀度,细胞免疫功能测定结果阳性,且复方虾青素的活性优于虾青素油单用。同时,虾青素油和复合虾青素均可明显提升小鼠抗体生成水平,体液免疫功能测定结果阳性,且复方虾青素的活性优于虾青素油单用。然而,在单核巨噬细胞吞噬能力和NK细胞活性方面,虾青素油和复合虾青素均未表现出明显的活性,未达到前期配伍设计的预期。后续还需要对配方进行调整,以获得更高的活性。

综上所述,参照《增强免疫力功能评价方法(征求意见稿)》的评价标准,可判定虾青素油和复合虾青素均具有增强免疫力的功能,其中复合虾青素的活性优于虾青素油单用,具备进一步深入开发的价值。

参 考 文 献

- [1] 余绍蕾,陈锦瑶,申开泽,等.红球藻软胶囊抗氧化功能评价研究[J].现代医院,2014,14(4):20-21.
YU S L, CHEN J Y, SHEN K Z, et al. Study on antioxidation health-care effect of haematococcus soft capsule[J]. Modern Hospital, 2014, 14(4): 20-21.
- [2] 魏东,严小君.天然虾青素的超级抗氧化活性及其应用[J].中国海洋药物杂志,2001,4(28):45-50.
WEI D, YAN X J. Super-antioxidant activity of natural astaxanthin and its application [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2001, 4(28): 45-50.
- [3] 凌善锋.虾青素的研究进展[J].生物学通报,2003,38(11):4-5.
LING S F. Advancement of research on astaxanthin [J]. Bulletin of Biology, 2003, 38(11): 4-5.
- [4] 张会香,余绍蕾,鸭乔,等.红球藻软胶囊缓解视觉疲劳功能评价研究[J].世界最新医学信息文摘,2015,15(14):106-107.
ZHANG H X, YU S L, YA Q, et al. Study on relieving visual fatigue effect of haematococcus soft capsule[J]. World Latest Medicine Information, 2015, 15(14): 106-107.
- [5] 陈志强,任璐,江慎华,等.虾青素降血糖作用的研究[J].食品科学,2008,29(7):402-404.
CHEN Z Q, REN L, JIANG S H, et al. Study on hypoglycemic effects of astaxanthin[J]. Food Science, 2008, 29(7): 402-404.
- [6] 罗仁勇,曾永兰.天然虾青素软胶囊降血脂功能的实验研究[J].现代预防医学,2009,36(4):731-732.
LUO R Y, ZENG Y L. Effects of astaxanthin on blood fat in rats [J]. Modern Preventive Medicine, 2009, 36(4): 731-732.
- [7] 陈东方,王海玉,李立,等.天然虾青素缓解体力疲劳作用的实验研究[J].中国现代医学杂志,2010,20(17):2567-2569.
CHEN D F, WANG H Y, LI L, et al. Alleviative effect of natural astaxanthin on physical fatigue [J]. China Journal of Modern Medicine, 2010, 20(17): 2567-2569.
- [8] PARK J S, CHYUN J H, KIM Y K, et al. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans [J]. Nutr Metab (Lond), 2010, 5(7): 18.
- [9] OKAI Y, HIGASHI-OKAI K. Possible immunomodulating activities of carotenoids in *in vitro* cell culture experiments [J]. Int J Immunopharmacol, 1996, 18(12): 753-758.
- [10] PARK J S, MATHISON B D, HAYEK M G, et al. Astaxanthin stimulates cell-mediated and humoral immune responses in cats [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2011, 144(3/4): 455-461.
- [11] JYONOUCHI H, SUN S, GROSS M. Effect of carotenoids on *in-vitro* immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells: Astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, enhances *in-vitro* immunoglobulin production in response to a T-dependent stimulant and antigen [J]. Nutr Cancer, 1995, 23(2): 171-183.
- [12] JYONOUCHI H, SUN S, IJIMA K, et al. Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action [J]. Nutr Cancer, 2000, 36(1): 59-65.
- [13] 司茹,郑梦思,邹莉波.美藤果油辅助改善小鼠记忆的功效[J].食品科学,2017,38(9):202-206.
SI R, ZHENG M S, ZOU L B. Effect of *Sacha inchi* oil on improving memory in mice [J]. Food Science, 2017, 38(9): 202-206.
- [14] 王林元,王淳,张建军,等.美藤果油对高脂血症

- 鹌鹑血脂及载脂蛋白影响[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(7): 893-896.
- WANG L Y, WANG C, ZHANG J J, et al. Effect of *Sacha inchi* oil on blood lipid, ApoAI, and ApoB in quails with hyperlipidemia[J]. Chin J Public Health, 2015, 31(7): 893-896.
- [15] 李伟, 王林元, 王景霞, 等. 美藤果油对高脂血症大鼠血脂的影响及对血管内皮细胞的保护作用[J]. 世界中医药, 2015, 10(8): 1227-1230.
- LI W, WANG L Y, WANG J X, et al. Research on the effect of *Sacha inchi* oil on blood lipid and vascular endothelial cells in hyperlipidemia rats[J]. World Chinese Medicine, 2015, 10(8): 1227-1230.
- [16] 欧丽娜, 高晶, 陈绍红, 等. 美藤果油对高脂血症大鼠血脂及 Apo AI、Apo B 的影响[J]. 现代预防医学, 2015, 42(20): 3766-3769.
- OU L N, GAO J, CHEN S H, et al. Effect of *Sacha inchi* oil on blood lipid, Apo AI and Apo B of hyperlipidemia rats[J]. Modern Preventive Medicine, 2015, 42(20): 3766-3769.
- [17] RINCÓN -CERVERA M Á, VALENZUELA R, HERNANDEZ-RODAS M C, et al. Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2016, 2(2): 25-35.
- [18] 李慧, 金红, 王晔, 等. 美藤果油增强免疫力的试验研究[J]. 现代食品, 2016, 16(39): 98-100.
- LI H, JIN H, WANG Y, et al. Experimental study on enhancing immunity of mido fruit oil[J]. Modern Food, 2016, 16(39): 98-100.
- [19] 于学芹, 马晓, 刘厚福, 等. 美藤果油和磷虾油合剂对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品安全导刊, 2016, 150(27): 130-132.
- YU X Q, MA X, LIU H F, et al. The effect of mixture of *Fructus metago* oil and krill oil on immune function of mice[J]. China Food Safety Magazine, 2016, 150(27): 130-132.
- [20] 曹俊岭, 陈刚正, 任汉阳, 等. 火麻仁油对复方地芬诺脂致便秘模型小鼠血清及脑 NO 及胸腺组织学的影响[J]. 河南中医学院学报, 2004, 19(110): 25-26.
- CAO J L, CHEN G Z, REN H Y, et al. The effect of oil of *Fructus cannabis* on the sera, brains' NO and thymus histology of the mice in constipation caused by compound Di Fen Nuo Zhi[J]. Journal of Henan University of Chinese Medicine, 2004, 19(110): 25-26.
- [21] 曹俊岭, 薛杰, 任汉阳, 等. 火麻仁油对复方地芬诺脂致便秘模型小鼠脑 SOD、GSH-Px、MDA 的影响[J]. 甘肃中医, 2004, 17(6): 9-10.
- CAO J L, XUE J, REN H Y, et al. Effects of hemp seed oil on SOD, GSH-Px and MDA in brain of constipation model rats induced by compound diphenoxylate[J]. Gansu Journal of Traditional Chinese Medicine, 2004, 17(6): 9-10.
- [22] 任汉阳, 张瑜, 刘红雨, 等. 火麻仁油对便秘模型小鼠抗氧化作用的实验研究[J]. 中国医药学报, 2004, 19(2): 123-124.
- REN H Y, ZHANG Y, LIU H Y, et al. Experimental study on antic oxidation function of constipation model of mice with *Fructus cannabis* [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2004, 19(2): 123-124.
- [23] 李根林, 曹亚蕊, 吴宿慧. 火麻仁油对衰老模型小鼠血脂水平及炎症、抗氧化相关指标的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 109-111.
- LI G L, CAO Y R, WU S H. Influence of semen cannabis oil on lipid levels, inflammatory cytokines and anti-oxidant of aging model mice[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2015, 31(1): 109-111.
- [24] 苏婧, 贺海波, 石孟琼, 等. 火麻仁油对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆障碍的保护作用研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(12): 1332-1339.
- SU J, HE H B, SHI M Q, et al. Effects of hemp seed oil on learning and memory performances in senile mice induced by D-galactose[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2011, 16(12): 1332-1339.
- [25] 李永进, 杨睿悦, 扈学棒, 等. 火麻仁蛋白对小鼠抗疲劳和免疫调节功能的初步研究[J]. 卫生研究, 2008, 37(2): 175-178.
- LI Y J, YANG R Y, HU X F, et al. Initial study of hemp seeds protein on antifatigue and the immunomodulation effects in mice[J]. Journal of Hygiene Research, 2008, 37(2): 175-178.
- [26] 沈峰, 尤华智, 聂国荣, 等. 火麻仁蛋白对荷瘤小鼠免疫调节功能的影响[J]. 广州医药, 2013, 44(6): 40-41.
- SHEN F, YOU H Z, NIE G R, Effects of flaxseed protein on immune regulation in tumor-bearing mice [J]. Guangzhou Medical Journal, 2013, 44(6): 40-

41. health functions claimed by health food allowed – Non nutrient supplements (2020 Edition) (Version for commentary)[EB/OL]. 2020-11-24 [2021-01-11]. https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202011/t20201124_323851.html.
- [27] 国家市场监督管理总局. 允许保健食品声称的保健功能目录 非营养素补充剂 (2020 年版)(征求意见稿)[EB/OL]. 2020-11-24[2021-01-11]. https://www.samr.gov.cn/hd/zjdc/202011/t20201124_323851.html. State Administration for Market Regulation. List of

Evaluation of Compound Astaxanthin to Enhance Immunity Function

Zhang Mengqi^{1,2}, Zhao Daoqiang^{1,2}, Chai Xiuying^{1,2}, Yan Hong^{1,2}, Zhou Liqiang^{1,2}, Wu Desong^{1,2*}

(¹Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111

²Yunnan Province Company Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111)

Abstract Objective: To evaluate the immune function of compound astaxanthin. Methods: Splenic lymphocyte transformation test of mice induced by ConA, delayed ear swelling test of mice induced by DNFB, antibody generation cell count test, serum hemolysin generation test, carbon particle clearance test and NK cell activity test were used to comprehensively evaluate the immune-enhancing function of compound astaxanthin. Results: Compared with the solvent control group, astaxanthin oil and compound astaxanthin could significantly improve the proliferation level of splenic lymphocytes and delayed ear edema in mice, and the cellular immune function was positive, and the activity of compound astaxanthin was better than astaxanthin oil. The hemolytic plaque number and serum antibody level were significantly increased, the humoral immune function was positive, and the activity of compound astaxanthin was better than astaxanthin oil. There was no significant effect on carbon clearance and NK cell activity in mice, and the results of mononuclear macrophage function and NK cell activity were negative. Conclusion: The compound astaxanthin has the function of enhancing immunity.

Keywords *Haematococcus pluvialis* extract; astaxanthin; *Plukenetia volubilis* L. oil; hemp seed oil; enhance immunity