

中药石菖蒲、九节菖蒲致畸、致突变的研究

山东中医药大学附属医院(济南 250011) 周晓园* 陶 凯 赵海霞
山东省劳动卫生职业病防治研究所 高晓奇 王 蕊 王晓芬 陶玉珍

摘 要 通过中药石菖蒲、九节菖蒲致畸、致突变性实验结果表明:当石菖蒲剂量为 300、600、1200 mg/kg 时,对小鼠无致畸作用;九节菖蒲各剂量组尤其是 600、1200 mg/kg 时,胎鼠畸形率升高,孕鼠吸收胎率升高,并有一定的剂量效应关系。染色体畸变分析试验,九节菖蒲大剂量组与石菖蒲组、阴性对照组相比染色体畸变率升高,但无统计学意义;小鼠骨髓微核试验表明,石菖蒲不能诱发嗜多染红细胞的微核率显著上升($P>0.05$),但九节菖蒲 3 个剂量组的微核百分数均高于石菖蒲及阴性对照组,并且随剂量加大微核率随之上升,具一定的剂量-效应关系。

关键词 石菖蒲 九节菖蒲 致畸 致突变 剂量-效应关系

石菖蒲、九节菖蒲作为常用中药已有几千年历史,应用非常广泛。但也有报告石菖蒲挥发油主要成分 β -细辛醚可引起大鼠十二指肠恶性肿瘤^[1,2],认为其有致癌性^[3],据 Oppdyke 等报告,黄樟醚能引起大鼠恶性肿瘤^[4],邵文霞等对我国 6 种石菖蒲挥发油分析发现 5 种含有黄樟醚成分,且含量均在 100mg/L 以上,其中以湖北恩施地区出产者含量最高^[5]。据 Taylor 氏报道石菖蒲主要成分 β -细辛醚可以诱发大鼠十二指肠恶性肿瘤^[6],石菖蒲挥发油中的黄樟醚成分亦能诱发大鼠恶性肿瘤^[7,8],杨永年等对石菖蒲另一主要成分 α -细辛醚的致突变研究中发现,剂量在 185.2 mg/kg 时,对沙门氏菌 TA₉₈ 有致突作用,并提示对大鼠染色体有断裂效应、对孕鼠有一定的毒性和胚胎效应^[9,10]。以上均为石菖蒲挥发油中所含的某种单一化学成分的动物致畸、致突变、致癌研究结果。九节菖蒲多年来一直作为与石菖蒲功效大致相同的中药应用,对其药理、毒理作用了解甚少,一直未见有关报道。菖蒲几千年来一直以中药饮片的形式广泛应用于临床的水煎剂及中成药制剂中,为正确评价临床用药安全性,我们

于 1994-10~1995-06 进行了石菖蒲、九节菖蒲乙醇提取物的 3 个剂量组的致畸、致突变试验。

1 致畸试验

1.1 材料:石菖蒲、九节菖蒲经 95%乙醇提取液为 1 g 生药/mL。

1.2 动物:昆明种小鼠,由山东医科大学实验动物室和山东省实验动物中心提供。

1.3 方法:选取健康成熟童贞小鼠 400 只,体重 25~35 g,按 2:1 雌雄合笼,次日晨检查雌鼠阴道,有阴栓者为受孕,并算为妊娠 0 d,连续检查 8 d,将孕鼠随机分为 8 组,每组 15 只。石菖蒲、九节菖蒲各设 1200、600、300 mg/kg 3 个剂量组,其余 2 组为正常及阳性对照组。正常对照组每日给蒸馏水 1 mL/只,阳性对照组给维生素 AD 原液 0.2 mL/只/d,各组均于妊娠后第 6~15 天连续灌胃给药。孕鼠分笼饲养,于妊娠第 18 天处死,剖腹取胎检查着床数、活胎数、吸收胎数、死胎数及胎盘重量,记录胎鼠体重、身长、尾长、发育及外观畸形情况。将 2/3 活胎鼠骨骼检查,另 1/3 活胎鼠切片检查内脏。

1.4 结果

* Address: Zhou Xiaoyuan, The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan.

周晓园 女,从事中医药工作 22 年,现任山东中医药大学附属医院内科副主任医师,山东中医药大学中医内科教研室副教授,国家中医药管理局指定全国血液肿瘤专业著名老中医顾振东教授学术继承人,中西医结合内科专业硕士研究生。以中西医结合内科肿瘤血液等疾病临床及实验研究为特长,承担国家中医药管理局、山东省科委科研课题六项(其中两项已获省科委三等奖),编写《高粘血症》等学术著作 6 部,发表《急性白血病死亡病例分析》等论著 20 余篇。

1.4.1 一般表现:石菖蒲、九节菖蒲各剂量组孕鼠给药后无不良反应,进食及活动与正常对照组相比无差异,仅九节菖蒲大剂量组在用药第9天时体重增长速度明显缓慢,但经统计学处理,菖蒲各剂量组与正常对照组相比无明显差异($P>0.05$),阳性对照组与正常对照组相比,体重增长抑制非常显著($P<0.01$),表明石菖蒲、九节菖蒲剂量在300、600、1200 mg/kg时对孕鼠体重增长基本无影响。

1.4.2 对小鼠生殖能力的影响:石菖蒲3个剂量组吸收胎率为0.66%、0.67%、0.62%,低于正常对照组1.76%,九节菖蒲3个剂量组吸收胎率为3.11%、3.29%、4.43%,明显高于正常组。维生素AD对照组15只小鼠中,6只部分吸收胎,3只全部吸收胎,吸收胎率为41.9%,活胎率仅50.97%,明显高于正常对照组,表明石菖蒲各剂量组对母鼠生殖功能不仅无不良影响,与同条件下试验的正常对照相比,石菖蒲对孕鼠的生殖功能有一定益处,而九节菖蒲提示对孕鼠生殖功能有一定不良影响。

1.4.3 对胎鼠生长发育的影响:菖蒲各剂量组共检查胎鼠910只,其生长发育、外观、体重、身长、尾长等均未见任何异常,与正常对照组比较均无明显差异($P>0.05$),表明石菖蒲、九节菖蒲各剂量组对胎鼠生长发育无不良影响。而阳性对照组胎鼠体重、身长、尾长、胎盘均较正常组低,有非常显著性差异($P<0.01$)。

1.4.4 对胎鼠骨骼发育的影响:胎鼠骨骼经茜素红染色后观察,菖蒲各剂量组及正常对照组的枕骨、颈椎、胸椎、腰椎等基本无异常,其中石菖蒲中剂量组、九节菖蒲大剂量组可见胸骨缺失,畸形率为5.1%、3%,但无规律性,发生率低。同样条件下维生素AD滴剂组的枕骨发育迟缓、胸骨缺失、骨化迟缓的阳性率明显增高,畸形率为60.38%,与正常对照组比较差异非常显著($P<0.01$)。表明石菖蒲、九节菖蒲各剂量组对胎鼠骨骼发育无不

良影响。

1.4.5 对胎鼠内脏发育的影响:石菖蒲3个剂量组,九节菖蒲小剂量组与正常对照组内脏均未发现异常,九节菖蒲大、中剂量组各见颅内出血1例。阳性对照组受检的26只胎鼠中,有14例可见颅骨下出血、脑室扩大、心脏扩大、肾积水显著性($P<0.01$),表明石菖蒲各剂量组及九节菖蒲小剂量组对胎鼠无不良影响。

2 致突变试验

2.1 Ames 试验:试验菌株用组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌TA₉₈(移码型突变)和TA₁₀₀(碱基置换型突变),经生物学鉴定菌株符合试验要求。石菖蒲、九节菖蒲均设5个浓度:5000、500、50、5、0.5 μg/皿,且每个浓度均设平行样。试验重复2次。结果:石菖蒲、九节菖蒲各浓度组的回复突变菌落数均未超过自发回复菌落数的2倍,而同条件下2AF、正定霉素、叠氮钠分别超过其自身自发突变数的2倍以上,有明显诱变性。表明石菖蒲、九节菖蒲各浓度组对TA₉₈、TA₁₀₀2个菌株无诱变性。

2.2 小鼠骨髓细胞染色体畸变试验:小鼠40只,雌雄各半,体重18~20 g,随机分为8组,每组5只。石菖蒲、九节菖蒲分别设3个剂量组:1200、600、300 mg/kg,以环磷酰胺70 mg/kg作为阳性对照,阴性对照组不用药。用灌胃法间隔24 h分2次给药,3 h后活杀,取骨髓Giemsa染色,电镜下观察每组每只小鼠骨髓的中期分裂细胞,进行染色体畸变分析,记录畸变类型和数量,用 μ 检验作统计学处理。结果:从染色体畸变率看,九节菖蒲1200 mg/kg时染色体畸变率为1.33%,高于阴性对照组的0.33%,但 $P>0.01$,其余九节菖蒲、石菖蒲5个剂量组与阴性对照组比较, $P>0.01$ 。同条件下环磷酰胺组染色体畸变率为19.0%,与阴性对照组相比, $P<0.01$ 。结果表明:石菖蒲、九节菖蒲在1200、600、300 mg/kg剂量时,无诱发染色体畸变效应。

2.3 小鼠微核试验:小鼠 48 只,雌雄各半,体重 20~26 g,随机分为 8 组,每组 6 只。石菖蒲、九节菖蒲各设 1200、600、300 mg/kg 3 个剂量组,阴性对照组给蒸馏水,阳性对照组给予环磷酰胺 30 mg/kg 腹腔注射。用灌胃法间隔 24 h 分 2 次给药。活杀,取骨髓,制片,计算其微核发生率。结果:九节菖蒲 3 个剂量组微核率分别为 1.83%、2.00%、2.33%,均高于同条件试验的石菖蒲组及阴性对照组。随着九节菖蒲剂量加大,各组的微核率亦随之上升,有一定的剂量效应关系。结果表明石菖蒲不能诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率显著上升,而同条件下,环磷酰胺则使微核率显著增高($P<0.01$)。

3 讨论

因孕期营养不良亦可造成仔胎畸形,故试验时供给孕鼠含充分营养饲料,并在同条件下设不含受试物阴性对照组及阳性致畸物对照组。试验在孕鼠胚胎器官形成期给药,此期对药物致畸最敏感,可以看出,石菖蒲 3 个剂量组的孕鼠吸收胎率分别为 0.66%、0.67%、0.63%,明显低于正常对照组的 1.76%,此试验结果与杨永年等对石菖蒲挥发油主要成分 α -细辛醚致畸试验结果相符,当剂量为 61.7、20.6 mg/kg 时,孕鼠的吸收胎率为 7.1%、0%,明显低于正常对照组 (13.3%)^[10]。结果提示石菖蒲可能对孕鼠的生殖能力有益。九节菖蒲 3 个剂量组的吸收胎率分别为 3.11%、3.29%、4.43%,高于正常对照组 1.76%,而且随着九节菖蒲剂量的加大吸收胎率随之上升,有一定剂量效应关系;九节菖蒲 1200、600 mg/kg 剂量组胎鼠可见颅内出血及胸骨缺失,畸形率分别为 2.17%、3%,而同件试验的正常对照组为 0%,故不能排除九节菖蒲,尤其是 1200、600 mg/kg 时有胚胎毒及致畸趋向。

3 个致突变试验表明,石菖蒲剂量在 300、600、1200 mg/kg 时,无致突变效应。在

同条件试验下,九节菖蒲大剂量组 (1200 mg/kg) 染色体畸变率 (1.33%) 为石菖蒲 (0.33%) 及阴性对照组 (0.33%) 的 4.03 倍,小鼠微核试验的微核率 (1.83%、2.00%、2.33%) 高于石菖蒲组 (1.17%、1.30%、1.50%) 及阴性对照组 (1.30%),并随着九节菖蒲剂量的加大微核率随之上升,有一定剂量效应关系。提示九节菖蒲增大剂量时,可能有致突变效应的倾向。

九节菖蒲与石菖蒲临床上作为具相同功效的中药应用多年,但从其植物科属、显微组织结构、化学成分、药理作用方面来看,则为 2 种完全不同的中药。石菖蒲为天南星科 *Acorus gramineus* Soland 植物根茎,组织中以大量油细胞为主,为含挥发油较多的中药之一,并含 α 、 β -细辛醚、黄樟醚等成分;而九节菖蒲则为毛茛科阿尔泰银莲花 *Anemone altaica* Pisch 之根茎,组织中含大量石细胞,以淀粉为主成分,含琥珀酸、棕榈酸、5-羟基乙酰丙酸、银莲花素等,但未见有挥发油及其药理作用的报道^[11]。本试验结果提示,九节菖蒲尤其是大、中剂量时,有胚胎毒及致畸趋向及致突变效应的作用,为了临床用药的安全性,我们认为对九节菖蒲毒理作用有进一步研究的必要。

参考文献

- 1 Taylor JM, et al. Toxicol Appl Pharmacol, 1967, 10: 405
- 2 Gross MA, et al. Am Assoc Cancer Res, 1970, 8: 24
- 3 Haberman RT. Project p-155-70 Report of the Food and Drug Administration, 1971. 155
- 4 Opdyke DL. J Fd Cosmet Toxicol, 1967, 13: 79
- 5 邵文霞, 等. 中成药研究, 1984, 1: 26
- 6 Tayler JM, et al. Toxicol APPL Pharmacol, 1967, 10: 405
- 7 Opdyke DL. J Fd Cosmet Toxicol, 1967, 13: 121
- 8 Hagan EC. Toxicol APPL Pharmacol, 1965, 7: 18
- 9 杨永年, 等. 南京医学院学报, 1986, 1(6): 11
- 10 杨永年, 等. 南京医学院学报, 1986, 4(6): 248
- 11 周晓园, 等. 山东中医学院学报, 1994, 4: 270

(1996-09-13 收稿)