

表 3 染料木素原料药对小鼠睾丸精母细胞染色体畸变率的影响

Table 3 Effect of genistein on spermatogonial chromosomal aberration test in mice

组 别	剂 量 /($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	动物数	观察细胞数 /个	染色体畸变细胞数 /个	畸变率 %
蒸馏水	—	5	500	9	1.80±0.84
染料木素	2 500	5	500	14	2.80±0.84
原料药	1 250	5	500	14	2.80±0.84
	625	5	500	12	2.40±0.55
CY	40	5	500	93	18.6±2.07

与溶剂对照组比较: * $P < 0.01$

* $P < 0.01$ vs control group

4 讨论

本研究所选的 3 项试验从基因和染色体水平反映遗传物质受损伤情况,是国内外进行外来化合物遗传毒理学方面安全性评价的常做实验。每种体外短期检测系统均会受到实验条件(如有限的体外代谢活化系统)、实验设计、不同化合物的特殊性等因素影响,使试验结果存在一定比例的假阴性或假阳性的可能,任何一项遗传毒性试验中的阳性、阴性结果不能完全说明受试物是否具有致突变性,需结合遗传毒性方面的多项检测试验结果全面考虑,以提高对受试物是否具有诱变性及潜在致癌性评价的可靠性^[8]。因此,我们选择 Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠睾丸精母细胞染色体畸变试验 3 个测试系统来研究染料木素原料药的致突变性。染料木素原料药经处理不完全溶于水及常用溶剂等特殊理化性质,影响体外培养细胞染色体畸变试验结果的稳定性和可靠性,因此,本研究依据《中药新药研究指南》^[9]要求选用哺乳动物生殖细胞染色体畸变试验以保证评价结果的相对可靠。

上述研究覆盖体内与体外两种试验方法,并以微生物和哺乳动物作为实验材料,从基因和染色体两种水平所获得的结果均表明:在本试验条件下,染料木

素原料药无致突变作用。为染料木素原料药进一步开发和利用提供遗传毒理方面的安全性实验资料。

References

[1] Chen H, Ni A M. The preventive effects of isoflavone on osteoporosis [J]. *Foreign Med Sci—Geriatrics* (国外医学·老年医学分册), 2000, 21 (1): 12-14.

[2] Yu W S. Research development in phyto-oestrogens [J]. *Foreign Med Sci—Hygiene* (国外医学·卫生学分册), 1999, 26 (2): 84-87.

[3] Arjmandi B H, Alekel L, Hollis B W, *et al*. Dietary soybean prevents bone loss in ovariectomised rat model of osteoporosis [J]. *J Nutr*, 1996, 126: 161-167.

[4] Wilcox G, Wahlavist M L, Burger H G, *et al*. Oestrogenic effects of plant foods in postmenopausal women [J]. *Br Med J*, 1990, 61: 651-661.

[5] Maron D M, Ames B N. Revised method for the Salmonella mutagenicity test [J]. *Mutat Res J*, 1983, 113: 173-215.

[6] Yuan B J, Wang Z Q. *Preclinical Safety Evaluation and Practice of Pharmaceuticals* (新药临床前安全性评价与实践) [M]. Beijing: Military Medical Science Publishing House, 1997.

[7] Qin C H. *Detection Methods of Mutagenicity and Carcinogenicity of Chemicals* (化学物致突变致癌检测技术) [M]. Urumqi: Xinjiang Medical Science and Technology Publishing House, 1996.

[8] Zhou H J. *International Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals (Safety Evaluation)* (药品注册的国际技术要求·安全性部分) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.

[9] Ministry of Health, P. R. China. *Guideline on the Studies of the New Chinese Materia Medica* (中药新药研究指南) [S]. 1993.

山豆根碱抗炎作用的研究

谢世荣,黄彩云,黄胜英*

(大连大学医学院 药理教研室,辽宁 大连 116622)

摘要:目的 山豆根碱 (dauricine, DRC) 的抗炎作用研究。方法 采用组胺、醋酸对毛细血管通透性增高和二甲苯引起小鼠的炎性水肿;棉球植入大鼠皮下组织致肉芽组织增生和角叉菜胶致大鼠后爪水肿,肾上腺内抗坏血酸含量测定方法。结果 DRC 50, 100 mg/kg 对上述炎症模型与氢化可的松相似,均具有显著的抑制作用。肾上腺切除的大鼠,也具有同样的抗炎作用。相同剂量的 DRC 对正常大鼠的抗炎作用强于切除肾上腺大鼠。DRC 也降低肾上腺内抗坏血酸含量。结论 提示 DRC 既有直接抗炎作用,又有兴奋垂体-肾上腺皮质系统的间接抗炎作用。

* 收稿日期: 2002-06-27
作者简介: 谢世荣 (1952-), 女, 副教授, 大连市药学会理事。

关键词: 山豆根碱;水肿;抗炎作用;毛细血管通透性
中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2003) 04- 0355- 03

Anti-inflammatory effect of dauricine

XIE Shi-rong, HU ANG Cai-yun, HU ANG Sheng-ying

(Department of Pharmacology, Medical College of Dalian University, Dalian 116622, China)

Key words dauricine (DRC); edema; anti-inflammatory effect; capillary permeability

北山豆根为防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* DC. 干燥根茎,含有多 种生物碱,从蝙蝠葛中提得的活性成分为蝙蝠葛碱 (即山豆根碱),未发现有关山豆根碱抗炎作用的文献报道,因此对山豆根碱的抗炎作用进行了实验研究

1 材料
1.1 动物: SD 大鼠 108 只,体重 (212.0±21.1) g,昆明种小鼠 120 只,体重 (20.5±2.3) g,♂♀兼用,由我校实验动物中心提供

1.2 药品: DRC 为本室制得,纯度 94.5%,为淡黄色粉末,水溶。氢化可的松 (cortisol) 为上海信谊药厂产品,磷酸组胺为上海第十制药厂产品,二甲磷酸组胺为上海第十制药厂产品,二甲苯为北京化工厂生产,伊文思蓝为上海新中化工厂产品,三氯醋酸 (AcCl₃) 为广州化学试剂厂产品,角叉菜胶 (car-raseenin) 为英国 BDH 公司产品。

2 方法与结果
2.1 DRC 对血管通透性增高的影响
2.1.1 DRC 对皮肤毛细血管通透性增高的影响^[1]: 将 40 只小鼠随机分成 4 组,分别 sc DRC 50, 100 mg/kg, sc cortisol 62.5 mg/kg, sc 等容量 NS (生理盐水), 30 min 后 iv 0.5% 伊文思蓝溶液 10 mL/kg, 1 min 后腹部皮内注射 0.1% 磷酸组胺 0.1 mL, 20 min 后处死,取腹部呈蓝色的皮肤,剪碎用 7: 3 丙酮与 NS 溶液 4 mL 分 2 次浸泡,每次 2 h,合并浸液加适量丙酮与 NS 溶液至 5 mL, 1 500 r/min 离心 10 min,取上清液于 590 nm 比色,测定每鼠皮肤浸液中染料量,结果见表 1

2.1.2 DRC 对腹腔毛细血管通透性增高的影响^[2]: 将 40 只小鼠随机分成 4 组,分组及用药剂量同 2.1.1 项。1 h 后,各组小鼠 iv 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 10 mL/kg, ip 0.6% AcCl₃ 0.2 mL/只, 20 min 后处死,剪开腹部皮肤肌肉,用 6 mL NS 数次冲洗腹腔,然后测定每鼠腹腔冲洗液染料量,结果见表 1 DRC 组与 NS 组相比,对小鼠皮肤和腹腔毛细血管通透性增高均具有非常显著的抑制作用,剂量越大,作用越强 DRC 100 mg/kg 与 cortisol

62.5 mg/kg 效应相当。

表 1 DRC 对小鼠毛细血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effect of DRC on capillary permeability in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /(mg·kg ⁻¹)	动物数	伊文思蓝 / (l ² g ⁻¹ kg ⁻¹)	
			皮肤	腹腔
NS	-	10	1.62±0.12	7.02±0.5
DRC	50	10	1.20±0.20	5.42±0.5†
	100	10	0.98±0.10*	4.88±0.40**
cortisol	62.5	10	0.69±0.4†**	4.02±0.32**

与 NS 组相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs NS group

2.2 DRC 对二甲苯所致小鼠耳壳炎症的影响: 将 40 只小鼠随机分成 4 组,分别 sc DRC 50, 100 mg/kg, sc cortisol 62.5 mg/kg, sc 等容量 NS, 30 min 后,参照二甲苯致炎法^[3],给小鼠右耳先滴 0.03 mL 二甲苯, 15 min 后处死,用内径 8 mm 打孔器从耳壳取片。以右耳片重减去左耳片重,为右耳肿胀重量,分别计算肿胀抑制率,结果见表 2 DRC 50, 100 mg/kg 对二甲苯诱发的小鼠耳壳炎症与 cortisol 相似,具有显著的抑制作用。

表 2 DRC 对二甲苯所致小鼠耳壳炎症的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effect of DRC on ear inflammation induced by dimethylbenzene in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	动物数	抑制率 / %
NS	-	10	-
DRC	50	10	30.0±3.0
	100	10	55.0±5.0*
cortisol	62.5	10	56.±5.†*

与 NS 组相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs NS group

2.3 DRC 对大鼠足爪肿胀的影响
2.3.1 DRC 对正常大鼠足爪肿胀的影响: 将 32 只大鼠随机均分为 4 组,分别 ip DRC 50, 100 mg/kg, sc cortisol 62.5 mg/kg, ip 等容量 NS,测定每鼠左后肢正常足爪容积,做好标记, 30 min 后左后足爪 sc 0.1% 角叉菜胶 0.1 mL,致炎后每 1 h 测定左后足爪排出灌流液体积 1 次,共测 5 次。以致炎后足爪体积减去致炎前足爪体积,计算肿胀度,结果见图 1H。DRC 和 NS 对照组相比分别从给药后第

2 小时即有显著性抑制大鼠足爪肿胀作用。

2.3.2 正常和去肾上腺大鼠足爪肿胀作用的比较: 将 24 只大鼠随机平均分成 3 组, 第 1 2 组摘除双侧肾上腺, 饲以 NS 糖水并自由取食, 手术 5 d 后, 第 1 组 ip NS, 第 2 组 ip DRC 100 mg/kg, 第 3 组为正常大鼠, ip 同样剂量的 DRC。给药 30 min 后, 方法同前 2.3.1, 结果见图 1H。正常大鼠、去肾上腺大鼠与 NS 对照组相比从第 2 小时起均有非常显著的抗炎作用, 同样剂量 DRC 正常大鼠的抗炎作用显著强于去肾上腺大鼠。

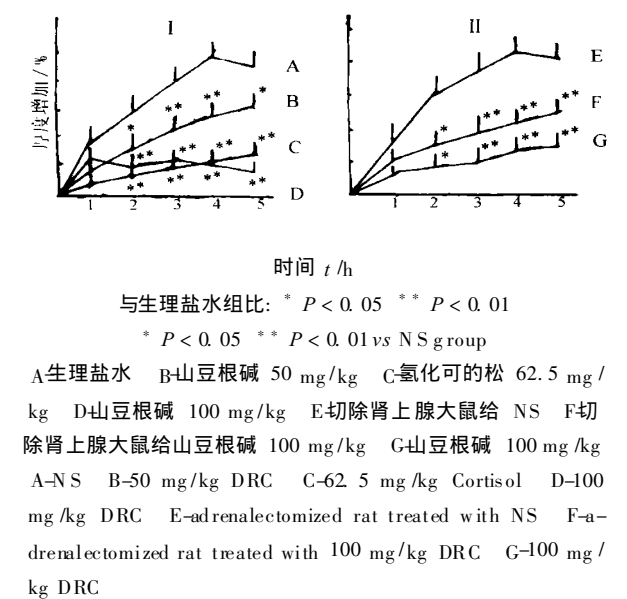


图 1 DRC 对大鼠足爪肿胀的影响

Fig. 1 Effect of DRC on paw edema of rat

2.4 DRC 对大鼠棉球肉芽增生的影响: 将 40 只大鼠随机平均分成 4 组, 大鼠背部去毛消毒, 沿中线切开背部皮肤, 左右两侧各埋入一个 30 mg 重的灭菌脱脂棉球, 术后 2 h, 分别 sc DRC 50, 100 mg/kg, sc cortisol 62.5 mg/kg, sc 等容量 NS 为对照, 连续给药 7 d 处死动物, 剥出周围已包裹肉芽组织的棉球, 60℃ 烘干称重, 减去原棉球重量, 即为肉芽净重, 结果见表 3。DRC 100 mg/kg 与 cortisol 62.5 mg/kg 作用近似, 与 NS 对照组相比均对大鼠炎性增生有显著抑制作用。

2.5 DRC 对大鼠肾上腺内抗坏血酸含量的影响: 将 20 只大鼠随机平均分为 4 组, 分别 ip DRC 50,

100 mg/kg, ip cortisol 62.5 mg/kg, ip 等容量 NS, 给药后 2 h 断头, 取双侧肾上腺, 制成匀浆测定抗坏血酸含量。50, 100 mg/kg DRC 组与 NS 对照组每 100 g 肾上腺内抗坏血酸含量分别为 (296.1 ± 20.3) , (287.8 ± 14.2) 与 (413.3 ± 10.94) mg, DRC 组肾上腺中抗坏血酸含量明显低于 NS 对照组 ($P < 0.01$)。

表 3 DRC 对大鼠棉球肉芽增生的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of DRC on proliferation of granuloma induced by cotton ball ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (mg · kg ⁻¹)	动物数	肉芽肿重 / mg
NS	-	10	243.2 ± 23.4
DRC	50	10	200.8 ± 19.9
	100	10	162.0 ± 16.0
Cortisol	62.5	10	166.1 ± 16.5

与 NS 组相比: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

3 讨论

本研究采用多种炎症模型研究 DRC 的抗炎作用, 实验表明 DRC 不仅对急性炎症的毛细血管通透性增高、炎性渗出和组织水肿有抑制作用, 而且对炎症后期肉芽组织的增生也有抑制作用。实验还表明使用 DRC 后, 大鼠肾上腺内抗坏血酸含量显著降低, 摘除大鼠双侧肾上腺仍具有抗炎作用, 但使用相同剂量 DRC 抑制正常大鼠角叉菜胶性炎症显著强于摘除双侧肾上腺大鼠。提示 DRC 既具有直接抗炎作用, 也具有通过兴奋垂体-肾上腺皮质系统间接发挥抗炎作用。

References

[1] Teng C Y. Methods of experimental methods of capillary permeability [J]. *Japan J Pharmacology*, 1968, 64 (3): 379-381.

[2] Whittle B A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics [J]. *Br Pharmacol Bull*, 1964, 22 (2): 246-249.

[3] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.

[4] Charles A W. Cotton ball induced granuloma swell in rats as an assay for antiinflammatory drugs [J]. *J Pharmacol*, 1963, 141: 369-371.

[5] Schaffert R R, Kingley G R. Determine of content of ascorbic acid [J]. *J Biol Chem*, 1995, 212: 59-61.

热烈庆祝《中草药》杂志荣获第 2 届国家期刊奖!