

## 补血益母丸遗传毒性研究

吉雅琪<sup>1</sup>, 李晓旭<sup>3</sup>, 柳清清<sup>3</sup>, 韦娜<sup>3\*</sup>, 吴梦瑶<sup>2</sup>, 冷其霖<sup>2</sup>, 董延生<sup>3</sup>

1. 中南林业科技大学 生命科学与技术学院, 湖南 长沙 410004

2. 株洲千金药业股份有限公司, 湖南 株洲 412003

3. 国科赛赋河北医药技术有限公司, 河北 廊坊 065500

**摘要:** 目的 对补血益母丸干膏粉进行遗传毒性试验, 为临床安全用药提供依据。方法 采用组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌 TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535 进行细菌回复突变 (Ames) 试验, 采用中国仓鼠肺成纤维 (CHL) 细胞进行体外染色体畸变试验, 采用 ICR 小鼠进行骨髓细胞微核试验综合评估补血益母丸干膏粉的遗传毒性。其中, Ames 试验设 50、150、500、1 500、5 000  $\mu\text{g}\cdot\text{皿}^{-1}$  5 个剂量; 体外细胞染色体畸变试验设 125、250、500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  3 个剂量; 小鼠骨髓细胞微核试验设 500、1 000、2 000  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  3 个剂量, 每天给药 1 次, 连续给药 3 d。结果 在代谢及非代谢活化条件下 (+S9/-S9), Ames 试验结果显示, 补血益母丸干膏粉对各菌株均无明显或可重复的诱变性及抑菌性; 体外 CHL 细胞染色体畸变试验结果显示, 补血益母丸干膏粉对 CHL 细胞染色体结构畸变率未见有意义的升高; 小鼠骨髓细胞微核试验结果显示, 补血益母丸干膏粉对 ICR 小鼠骨髓细胞微核率无明显影响。结论 补血益母丸干膏粉未见潜在的遗传毒性。

**关键词:** 补血益母丸干膏粉; 遗传毒性; Ames 试验; 染色体畸变试验; 微核试验

中图分类号: R994.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 03-0565-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.03.013

## Genotoxicity test of Buxue Yimu Pill

Ji Yaqi<sup>1</sup>, Li Xiaoxu<sup>3</sup>, Liu Qingqing<sup>3</sup>, Wei Na<sup>3</sup>, Wu Mengyao<sup>2</sup>, Leng Qilin<sup>2</sup>, Dong Yansheng<sup>3</sup>

1. School of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

2. Zhuzhou Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd., Zhuzhou 412003, China

3. SAFE Medical Technology Co., Ltd., Langfang 065500, China

**Abstract: Objective** The genotoxicity study of Buxue Yimu Pill dry ointment powder was carried out, and to provide data for clinical safety medication. **Methods** Bacterial reverse mutation test (Ames test) was performed with histidine auxotrophic *Salmonella typhimurium* strains TA97a, TA98, TA100, TA102, and TA1535, Chinese hamster lung fibroblasts (CHL cells) were used for *in vitro* chromosomal aberration test, and ICR small bone marrow cell micronucleus test was performed in mice to comprehensively evaluate the genotoxicity of Buxue Yimu Pill dry ointment powder. Among them, the Ames test set five doses of 50, 150, 500, 1500, and 5 000  $\mu\text{g}\cdot\text{dish}^{-1}$ . The *in vitro* chromosomal aberration test set three doses of 125, 250, 500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . The mouse bone marrow cell micronucleus test set three doses of 500, 1 000 and 2 000  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , administered once a day for 3 consecutive days. **Results** Under metabolic and non-metabolic activation conditions (+S9/-S9), the Ames test results showed that Buxue Yimu Pills had no obvious or reproducible mutagenicity and bacteriostasis to each strain. The Chromosomal aberrations in CHL cells *in vitro* test results showed that: Buxue Yimu Pills dry ointment powder did not significantly increase the chromosome structure aberration rate of CHL cells. The results of the mouse bone marrow cell micronucleus test showed that Buxue Yimu Pills had no significant effect on the micronucleus rate of bone marrow cells in ICR mice. **Conclusion** No significant genetic toxicity was observed in the dry ointment powder of Buxue Yimu Pill.

**Key words:** Buxue Yimu Pill dry ointment powder; genotoxicity; Ames test; chromosome aberration; micronucleus

收稿日期: 2022-09-02

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (2021JJ80088)

第一作者: 吉雅琪, 女, 硕士, 研究方向为生物与医药。Tel: 18173305860 E-mail: 425659560@qq.com。

\*通信作者: 韦娜, 女, 研究方向为毒理学。Tel: 18101389626 E-mail: weina@safeglp.com

补血益母丸由当归、黄芪、阿胶、益母草、陈皮5味中药组成,为棕褐色的浓缩丸,气香、味苦,其作为国家中药保护品种的非处方药,具有补血益气、祛瘀生新的功效,临床用于气血两虚兼血瘀证产后腹痛。现已有研究表明补血益母丸能有效抗双虚证候<sup>[1]</sup>,对治疗气虚血瘀型产后恶露不绝效果尤其显著<sup>[2]</sup>,另联合食疗及子宫按摩干预还可有效促进产妇产后盆底肌功能的恢复,缩短产后泌乳开始时间,增加泌乳量<sup>[3]</sup>。

随着补血益母丸在市场上的广泛应用,其毒性作用逐渐受到关注。临床前现有研究证实,补血益母丸对哺乳期大鼠亲代和子代均无明显发育毒性<sup>[4]</sup>,但该产品是否能够产生遗传毒性尚不清楚。本研究采用经典的体内外试验结合方式进行补血益母丸遗传毒性研究,为临床安全用药提供依据。

## 1 材料

### 1.1 药物及主要试剂

**1.1.1 受试物** 补血益母丸干膏粉,性状为黄褐色固体粉末,由株洲千金药业股份有限公司提供,批号20210515。

**1.1.2 阳性药** 迭氮钠(上海化工厂研究中心,批号为791030);2-氨基苄(Adamas-beta公司,批号为P1151808);敌克松(化成工业株式会社,批号为FCX01);1,8-二羟基蒽醌(Sigma公司,批号为WXBC4791V);环磷酰胺(华中海威基因科技有限公司,批号为80515RD1158);丝裂霉素(中国食品药品检定研究院,批号为130438-201103)。

**1.1.3 主要试剂** 大鼠肝脏微粒体酶S9(国科赛赋河北医药技术有限公司);琼脂粉、MEM培养液、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)(Solarbio公司);D-生物素(上海源叶生物科技有限公司);L-组氨酸(Solarbio公司);牛肉膏、蛋白胨(北京奥博星生物技术有限责任公司);新生牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司);吉氏色素(Aladdin公司);氯化钠注射液(石家庄四药有限公司)。

### 1.2 主要仪器

生物安全柜、洁净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司);低温培养箱、电热恒温水浴锅(北京陆希科技有限公司);恒温培养振荡器(上海智诚分析仪器制造有限公司);超纯水纯化系统(英国ELGA公司);二氧化碳培养箱(上海力申科学仪器有限公司);倒置显微镜(德国Leica公司);落射荧光显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);离心

机(湖南可成仪器设备有限公司)。

## 1.3 实验系统

**1.3.1 菌株** 组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535,购自美国MOLECULAR TOXICOLOGY, Inc.

**1.3.2 细胞株** 中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)购自中国科学院细胞库。

**1.3.3 实验动物** SPF级ICR小鼠30只,雄性,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0006,饲养环境温度21.0~23.7℃(日温差≤2.4℃),相对湿度52.1%~64.6%。本研究所涉及的动物试验相关的内容和程序都遵从实验动物使用和管理的相关法律法规和国科赛赋河北医药技术有限公司实验动物福利伦理委员会(IACUC)的相关规定,动物数量、试验设计及动物的处理都已通过IACUC审批,审批编号为IACUC-2021-263。

## 2 方法

### 2.1 鼠伤寒沙门氏菌回复突变(Ames)试验

本试验选用TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535,在加及不加代谢活化系统S9条件下采用平板掺入法<sup>[5]</sup>进行试验。根据ICH指导原则S2(R1)<sup>[6]</sup>及OECD 471<sup>[7]</sup>,在细菌回复突变试验中,如果沉淀不干扰计数、不受细胞毒性限制,应对产生沉淀的浓度进行计数,应以产生沉淀的最低浓度作为进行计数的最高浓度,且最高浓度不超过5 000 μg·mL<sup>-1</sup>,试验至少应包含5个可用于结果分析的浓度。补血益母丸干膏粉在5 000 μg·mL<sup>-1</sup>的剂量下未产生沉淀,因而补血益母丸干膏粉最高给药剂量设为5 000 μg·mL<sup>-1</sup>,并向下依次设4个剂量组,分别为50、150、500、1 500 μg·mL<sup>-1</sup>。另设溶剂对照组(给予DMSO溶液)和阳性对照组(给予相应阳性制剂),阳性对照组不加S9时,TA97a、TA98各加入100 μg·mL<sup>-1</sup>的敌克松,TA100、TA1535各加入1.5 μg·mL<sup>-1</sup>的迭氮钠,TA102加入0.5 μg·mL<sup>-1</sup>的丝裂霉素;加S9时,TA97a、TA98、TA100各加入10 μg·mL<sup>-1</sup>的2-氨基苄,TA102加入50 μg·mL<sup>-1</sup>的1,8-二羟基蒽醌,TA1535加入200 μg·mL<sup>-1</sup>的环磷酰胺,每皿给药体积0.1 mL,每组平行3皿,(37±2)℃培养约48 h后观察结果。镜下观察背景菌苔的生长情况、并计数每培养皿上的回变菌落数,若受试物的回变菌落数为自发回变菌落数的2倍以上,并具有剂量相关性则判定为阳性。在相同条件下重复1次试验以确保结果的可靠性。

## 2.2 体外染色体畸变试验

将处于指数分裂期、贴壁生长良好的CHL细胞分别接种于50 mL培养瓶(终浓度为 $5 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ ),放置于 $\text{CO}_2$ 培养箱,  $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、 $(5.0 \pm 0.5)\% \text{CO}_2$ 中培养约24 h后,在加及不加代谢活化系统S9条件下进行试验。根据ICH指导原则S2(R1),细胞染色体畸变试验推荐的最高测试浓度是 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;其最高浓度产生的细胞毒性应不超过细胞生长减少约50%,试验至少应包含3个可用于结果分析的浓度。因此补血益母丸干膏粉剂量设计为125、250、500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,另设溶剂对照组(给予同等体积DMSO)及阳性对照组(加S9时为1 250  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 环磷酰胺,不加S9时为12.5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的丝裂霉素C)。本试验采用有或无S9代谢活化系统暴露4 h、无S9代谢活化系统暴露24 h 3种给药处理方式,每组2个平行,各组收获细胞前4 h加入终质量浓度为 $0.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的秋水仙碱,胰酶消化,离心后收集细胞,用 $0.075 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钾(KCl)溶液对细胞低渗处理,细胞固定液(甲醇-冰乙酸=3:1)固定,取细胞沉淀物进行常规制片,姬姆萨染色,自来水冲洗掉染色液,自然晾干后镜检。各组观察300个中期分裂相细胞,计数每组的染色体畸变数及结构的变化。受试物所诱发的染色体畸变率呈剂量相关性增加,或出现可重复性增加,判定为阳性。

## 2.3 小鼠骨髓细胞微核试验

根据ICH指导原则S2(R1),体内微核试验短期试验(通常给药1~3次)推荐的最高剂量是 $2\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,高剂量设为最大耐受剂量,通常对有代表性的3个剂量水平进行分析检测。选取30只SPF级健康ICR小鼠(雄性),根据体质量随机分为5组,分别为溶剂对照(氯化钠注射液)组、阳性对照(环磷酰胺,  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组和补血益母丸干膏粉低、中、高剂量( $500$ 、 $1\ 000$ 、 $2\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组。溶剂对照组及补血益母丸干膏粉各组均ig相应试剂,给药体积为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,每天给药1次,连续给药3 d,每次给药间隔约24 h;阳性对照组于试验第3天ip环磷酰胺1次,给药体积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。于末次给药后约24 h对各组存活小鼠吸入过量 $\text{CO}_2$ 后,颈椎脱臼安乐死,取小鼠股骨进行骨髓涂片。显微镜下各组每只小鼠计数4 000个嗜多染红细胞,并记录微核发生率,同时计数500个骨髓红细胞[嗜多染红细胞(PCE)+正染红细胞(NCE)],求出嗜多染红细胞与总红细胞的比值,即 $\text{PCE}/(\text{PCE}+\text{NCE})$ 。受试物所诱发的微核率呈剂量相关性升高,或某一剂量组

在某一测试点呈现可重复性升高,判定为阳性。

## 2.4 统计分析

回变菌落数、动物的微核率及 $\text{PCE}/(\text{PCE}+\text{NCE})$ 值均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组染色体畸变率采用百分率表示,本研究中所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义,所有的统计分析均使用Stata/IC 15.1软件完成。

先采用Bartlett's法对回变菌落数、微核率、 $\text{PCE}/(\text{PCE}+\text{NCE})$ 进行方差齐性检验,方差齐时,则采用单因素方差分析(ANOVA)进行统计学检验;方差不齐时,则采用Kruskal-Wallis H秩和检验进行统计分析。当ANOVA分析显示差异有统计学意义时( $P < 0.05$ ),则采用Dunnett's t检验对组间差异进行比较;当ANOVA分析显示差异无统计学意义时( $P > 0.05$ ),则统计分析结束。当Kruskal-Wallis H秩和检验显示差异有统计学意义时( $P < 0.05$ ),则采用Mann-Whitney U检验对组间差异进行比较;当Kruskal-Wallis H秩和检验显示差异无统计学意义时( $P > 0.05$ ),则统计分析结束。

各组染色体畸变率采用Fisher确切概率法(EXACT)比较阳性对照组与溶剂对照组、补血益母丸各浓度组与溶剂对照组的总体差异,后者差异有统计学意义时( $P < 0.05$ ),则继续用Fisher确切概率法比较补血益母丸各浓度组与溶剂对照组两组间的差异。

## 3 结果

### 3.1 Ames试验

如表1所示,在有或无S9代谢活化系统的条件下,TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535各测试菌株在补血益母丸干膏粉各浓度作用下,回复突变菌落数未见明显下降,表明该试验条件下未出现明显的抑菌性,亦未见回变菌落数有毒性意义的增加,试验结果为阴性,说明在本试验条件下,补血益母丸干膏粉不具有致突变性。

### 3.2 体外染色体畸变试验

$125$ 、 $250$ 、 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的补血益母丸干膏粉均未引起CHL细胞染色体结构畸变率有毒性意义的升高,试验结果为阴性,具体结果见表2。

### 3.3 小鼠骨髓细胞微核试验

试验期间,各组小鼠给药后均未出现死亡或濒死症状。试验第1天至解剖,溶剂对照组、阳性对照组及补血益母丸干膏粉低、中、高剂量组所有小鼠一般表现、行为活动、呼吸状态、五官、体表、粪尿等均未见与受试物有关的毒性症状。补血益母丸干

表1 补血益母丸干膏粉对鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株回复突变菌落数的影响( $\bar{x}\pm s, n=4$ )

Table 1 Effect of Buxue Yimu Pill dry ointment powder on number of revertant colonies of *Salmonella Typhimurium* Strains ( $\bar{x}\pm s, n=4$ )

组别	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	-S9(第1次试验)					+S9(第1次试验)				
		TA97a	TA98	TA100	TA102	TA1535	TA97a	TA98	TA100	TA102	TA1535
溶剂对照	—	105±6	28±3	101±22	171±10	13±4	108±15	23±3	116±9	193±2	15±4
阳性对照	—	7 647±400*	1 195±159*	830±23*	505±64*	180±21*	904±64*	248±30*	845±45*	506±72*	244±7*
补血益母丸 干膏粉	50	115±8	22±10	139±7	167±2	10±1	122±11	25±5	128±12	179±14	15±2
	150	109±6	25±6	133±33	174±9	10±3	126±18	24±8	114±22	186±16	14±4
	500	99±12	24±7	115±22	181±8	10±1	120±11	23±8	121±9	174±14	10±3
	1 500	91±23	29±5	115±26	180±6	11±3	121±6	21±6	139±18	172±11	9±2
	5 000	101±18	34±4	126±14	186±5	13±5	135±6	18±2	104±23	176±11	10±2
组别	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	-S9(第2次试验)					+S9(第2次试验)				
		TA97a	TA98	TA100	TA102	TA1535	TA97a	TA98	TA100	TA102	TA1535
溶剂对照	—	117±6	20±3	209±19	179±9	17±4	119±5	32±2	173±17	179±7	25±1
阳性对照	—	8 262±328*	1 221±72*	782±89*	569±74*	379±34*	760±55*	274±25*	782±132*	519±38*	320±5*
补血益母丸 干膏粉	50	120±12	30±7	216±21	191±5	22±5	130±9	27±4	181±34	186±19	22±3
	150	114±12	26±7	221±1	177±12	17±5	138±3*	34±2	176±23	182±8	42±19
	500	128±17	31±6	228±21	180±7	13±4	135±8*	29±3	181±14	169±10	28±7
	1 500	119±18	28±5	185±28	184±6	20±7	143±6*	27±3	174±13	180±4	31±9
	5 000	139±10	23±5	214±13	184±20	18±5	133±10	40±8	172±16	179±11	24±4

与溶剂对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs solvent control group

表2 补血益母丸干膏粉对CHL细胞染色体畸变的影响

Table 2 Results of effect of Buxue Yimu Pill dry ointment powder on chromosomal aberrations in CHL cells

组别	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	-S9, 4 h 中期分裂相 细胞数	-S9, 4 h 结构畸变细胞		-S9, 4 h 裂隙细胞		-S9, 4 h 多倍体细胞		-S9, 4 h 内复制细胞	
			频数	百分比/%	频数	百分比/%	频数	百分比/%	频数	百分比/%
溶剂对照	—	300	5	1.7	2	0.7	0	0.0	0	0.0
阳性对照	—	300	25	8.3*	14	4.7	1	0.3	0	0.0
补血益母丸 干膏粉	125	300	4	1.3	2	0.7	0	0.0	0	0.0
	250	300	3	1.0	2	0.7	0	0.0	0	0.0
	500	300	4	1.3	2	0.7	1	0.3	0	0.0
组别	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	-S9, 24 h 中期分裂相 细胞数	-S9, 24 h 结构畸变细胞		-S9, 24 h 裂隙细胞		-S9, 24 h 多倍体细胞		-S9, 24 h 内复制细胞	
			频数	百分比/%	频数	百分比/%	频数	百分比/%	频数	百分比/%
溶剂对照	—	300	5	1.7	1	0.3	0	0.0	0	0.0
阳性对照	—	300	26	8.7*	12	4.0	1	0.3	0	0.0
补血益母丸 干膏粉	125	300	3	1.0	1	0.3	0	0.0	0	0.0
	250	300	3	1.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	500	300	3	1.0	1	0.3	0	0.0	0	0.0
组别	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	+S9, 24 h 中期分裂相 细胞数	+S9, 24 h 结构畸变细胞		+S9, 24 h 裂隙细胞		+S9, 24 h 多倍体细胞		+S9, 24 h 内复制细胞	
			频数	百分比/%	频数	百分比/%	频数	百分比/%	频数	百分比/%
溶剂对照	—	300	3	1.0	1	0.3	0	0.0	0	0.0
阳性对照	—	300	24	8.0*	12	4.0	0	0.0	0	0.0
补血益母丸 干膏粉	125	300	4	1.3	1	0.3	0	0.0	0	0.0
	250	300	4	1.3	2	0.7	0	0.0	0	0.0
	500	300	5	1.7	2	0.7	0	0.0	0	0.0

与溶剂对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs solvent control group

膏粉末引起骨髓细胞染色体完整性损害或导致染色体分离异常,试验结果为阴性。具体结果见表3。

表3 补血益母丸干膏粉对ICR小鼠微核及嗜多染红细胞比例的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of Buxue Yimu Pill dry ointment powder on micronuclei and proportion of polychromatic erythrocytes in ICR mice ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	微核率/%	PCE/(PCE+NCE)
溶剂对照	—	0.02±0.02	0.50±0.02
环磷酸胺	40	0.45±0.13*	0.49±0.02
补血益母丸	500	0.06±0.04	0.49±0.01
干膏粉	1 000	0.04±0.01	0.51±0.02
	2 000	0.04±0.02	0.50±0.02

与溶剂对照组比较:\* $P<0.05$

\* $P < 0.05$  vs solvent control group

#### 4 讨论

由于大部分遗传毒性试验的检测终点不同,所以在进行化合物安全性评价时,要根据受试物的拟用适用证和作用特点等综合评估进行遗传毒性研究,这样才能更客观地进行分析评价。目前最经典的检测方法包括3大类(基因突变、染色体畸变、DNA损伤),由于尚未发现任何单一试验方法能检测出所有与肿瘤发生相关的遗传毒性机制,因此,标准做法是采用体外和体内试验组合的方法,全面评估受试物的遗传毒性风险<sup>[8]</sup>。这些试验相互补充,对结果进行判断时需要综合考虑<sup>[9-11]</sup>。

Ames试验主要应用一组鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型(his<sup>-</sup>)菌株,因为这些菌株不能合成组氨酸,在缺乏组氨酸的培养基上不能生长,受诱变剂作用后,大量细胞发生回复突变成野生型(his<sup>+</sup>)微生物,可自行合成组氨酸,发育为肉眼可见的菌落,从而确定受试物是否有致突变性,目前Ames试验因其应用广泛、重现性好、方法简便,已被多个国际组织及各国家作为首选<sup>[12]</sup>;染色体畸变试验是反映细胞染色体损伤的敏感指标,试验通过镜下直接观察染色体数目和结构的异常预测遗传毒性风险,其凭借快速、简便、灵敏的特点成为常用的遗传毒性试验检测方法;微核试验是指当细胞的染色体发生断裂后,细胞进入下一次分裂时,染色体片段不能随有丝分裂进入子细胞,而在胞浆中形成直径小于主核的、完全与主核分开的圆形或椭圆形小体,来判断受试物引起染色体异常作用的哺乳动物细胞体内试验,该方法简便、特异性强、快速可靠,已作为化学致突变试验中必不可少的筛检

方法<sup>[13]</sup>。

本研究采用的标准试验组合为:Ames试验、CHL细胞染色体畸变试验、小鼠骨髓细胞微核试验。Ames试验结果为阴性,表明当前试验体系下未检出受试物致突变性;体外细胞染色体畸变试验结果为阴性,表明当前试验体系下未见染色体结构畸变风险;小鼠骨髓红细胞微核试验结果为阴性,表明当前试验体系下未检出DNA损伤风险。通过以上试验表明未见补血益母丸干膏粉潜在的遗传毒性。

本研究首次对补血益母丸干膏粉的遗传毒性风险进行多终点评价,为补血益母丸的临床用药安全提供参考,同时也为长期摄入该产品的致癌性风险评价提供数据支持。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 李亚梅, 宾雨飞, 夏伯候, 等. 补血益母丸对气血双虚模型小鼠的药效作用研究[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(3): 158-164.  
Li Y M, Bin Y F, Xia B H, et al. Study on the pharmacodynamic effect of Buxue Yimu pills in mice model with qixueshuangxu syndrome [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(3): 158-164.
- [2] 黄丽玲. 补血益母丸治疗气虚血瘀型产后恶露不绝的临床观察[J]. 内蒙古中医药, 2020, 39(11): 10-11.  
Huang L L. Clinical observation on Buxue Yimu pill in treating postpartum lochiorrhea of qi deficiency and blood stasis type [J]. Inn Mong J Tradit Chin Med, 2020, 39(11): 10-11.
- [3] 李幼香. 补血益母丸与加强食疗联合子宫按摩对产后盆底肌功能乳汁分泌及子宫复旧时间的影响[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(24): 4702-4704.  
Li Y X. Effects of Buxue Yimu pill and intensive diet therapy combined with uterine massage on postpartum pelvic floor muscle function, milk secretion and uterine involution time [J]. Matern Child Health Care China, 2020, 35(24): 4702-4704.
- [4] 唐桂毅, 张海娇, 温和, 等. 补血益母丸哺乳期暴露对大鼠亲代和子代发育毒性的研究[J]. 药物评价研究, 2020, 43(7): 1294-1300.  
Tang G Y, Zhang H J, Wen H, et al. Toxicity of lactation exposure to Buxue Yimu Pills on maternal rats and their offsprings [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(7): 1294-1300.
- [5] 袁伯俊, 廖明阳, 李波. 药物毒理学实验方法与技术

- [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- Yuan B J, Liao M Y, Li B. *Experimental Methods and Techniques of Drug Toxicology* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [6] Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use [S]. 2011.
- [7] Bacteria Reverse Mutation Test [S]. 1997.
- [8] 胡明臣, 任发政, 罗红霞, 等. 遗传毒性试验方法的研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2011, 2(2): 75-82.
- Hu M C, Ren F Z, Luo H X, et al. Progress of genetic toxicity test [J]. *J Food Saf Qual*, 2011, 2(2): 75-82.
- [9] Tabrez S, Ahmad M. Genotoxicity of trichloroethylene in the natural milieu [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2012, 215(3): 333-338.
- [10] 文海若, 王亚楠, 宋捷, 等. 哺乳动物细胞染色体畸变试验的标准化与背景数据采集 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(5): 727-733.
- Wen H R, Wang Y N, Song J, et al. Standardization and historical data collection of mammalian cell chromosome aberration test [J]. *Drug Eval Res*, 2018, 41(5): 727-733.
- [11] 钟泽娜, 邢成锋, 梁礼珍, 等. 遗传毒性验证试验 [A]// 2013年(第三届)中国药物毒理学会暨药物非临床安全性评价研究论坛 [C]. 苏州: 中国药理学与毒理学杂志编辑部, 2013.
- Zhong Z N, Xing C F, Liang L Z, et al. Genotoxicity verification test [A]// 2013 (3rd) annual meeting of Chinese pharmacotoxicology and forum on non clinical safety evaluation of drugs [C]. Suzhou: Editorial Office of Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2013.
- [12] 周宗灿, 傅娟龄, 徐厚恩, 等. 遗传毒理学试验预测致癌物的作用和策略 [J]. 北京医科大学学报, 1990, 22(4): 246-248.
- Zhou Z C, Fu J L, Xu H E, et al. Predicting carcinogens with genetic toxicology tests: Role and strategy [J]. *J Peking Univ Health Sci*, 1990, 22(4): 246-248.
- [13] 曲见松, 袁敬清, 赵艳霞, 等. 微核试验方法的研究进展 [J]. 药学研究, 2017, 36(10): 602-604.
- Qu J S, Yuan J Q, Zhao Y X, et al. Research progress of the methods of micronucleus assay [J]. *J Pharm Res*, 2017, 36(10): 602-604.

[责任编辑 兰新新]