

不同炮制方法对藤黄致变性的影响

南京中医药大学(210029) 孔令东* 叶定江 王明艳 高存强

摘要 以小鼠骨髓细胞中嗜多染红细胞微核和姐妹染色单体互换为指标,观察不同炮制方法对藤黄致变性的影响。结果表明,藤黄经炮制后可降低其致变性,各炮制品之间无显著性差异。

关键词 藤黄 炮制方法 致变实验

藤黄是一剧毒药,在中医临床上藤黄必须炮制降其毒性方可服用。我们以小鼠骨髓细胞中嗜多染红细胞(PCEs)、微核(MN)率和姐妹染色单体互换(SCE)频率为指标,探讨不同炮制方法对藤黄致变性的影响。

1 实验材料

1.1 药材:藤黄购自南京市药材公司,产地泰国。经本校陈建伟副教授鉴定为藤黄科植物藤黄 *Garacinia hanburyi* Hook F. 所分泌的干燥树脂。

1.2 试剂:环磷酰胺(CPA 上海第十二制药厂),5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-Brdu,Fluka)。

1.3 动物:ICR 小鼠,雌雄各半,体重 20 ± 2 g,由本校实验动物中心提供。

2 方法和结果

2.1 藤黄的炮制:生品:将原药材拣去杂质,轧成粗粒。

山羊血制品:将 1000 mL 水和 250 g 山羊血共煮,煮沸后加入 500 g 生藤黄煮 5 h,纱布过滤,去净山羊血块及残渣,滤液晾干。

清水制品:将清水 1000 mL 煮沸后加入 500 g 生藤黄,烊化,纱布过滤去残渣,滤液继续加热 5 h,晾干。

荷叶制品:将干秋荷叶 250 g 放入 2500 mL 水中,煮沸 1 h 后过滤,得荷叶煎汁约 1000 mL,加入 500 g 生藤黄,烊化,纱布过滤去渣,滤液继续加热 5 h,晾干。

豆腐制品:将 1250 g 豆腐放入盘内,中间挖一不透底的槽,取 500 g 生藤黄放入,再用豆腐盖严,隔水加热 5 h 至藤黄溶化,取

出,冷却凝固后去豆腐,晾干。

高压蒸制品:生藤黄置有盖的瓷杯中,放入高压蒸锅中,126℃蒸制 0.5 h,取出,晾干。

以上各炮制品粉碎,过 100 目筛,用 0.5%CMC-Na 溶液配成不同浓度的混悬液,供小鼠灌胃用。

2.2 对小鼠骨髓 PCEsMN 率的影响:将小鼠随机分 20 组,每组 8 只。藤黄组按表 1 项 ig,阴性对照组 ig 等体积 0.5%CMC-Na,1 次/d,连续 9 d,第 10 天脱臼处死动物。阳性对照组每天 ig 等体积 0.5%CMC-Na,处死前 30 h ip 20 mg/kg CPA。取股骨骨髓细胞,常规制片,用 Giemsa 液染色,显微镜检,每组计数 5000 个 PCE,计算 MN 率,并进行 χ^2 检验。结果表明,与 CMC-Na 组比较,藤黄生品 24 和 12 mg/kg 剂量组非常显著地提高 MN 率($P < 0.001$, $P < 0.01$),藤黄炮制品 24 mg/kg 剂量组显著地提高 MN 率($P < 0.05$),藤黄生品 6 mg/kg 剂量组均无显著性差异。藤黄各组存在一定的量效关系。结果见表 1。

2.3 对小鼠骨髓细胞 SCE 的影响:小鼠分组,给药同前。所有实验组动物处死前 24 h ip 40 mg/20 g 5-Brdu(与 300 目活性炭搅匀)、处死前 4 h ip 5 mg/kg 秋水仙素。取股骨骨髓细胞,常规制片,标本片在 37℃温箱中老化 2 d 后,进行分化染色,显微镜检。每组计数 240 个中期分裂相,按 Lamber 法计数 SCE,计算 SCE 频率,并进行 t 检验。结果

* Address: Kong Lingdong, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing

表明,与 CMC-Na 组比较,藤黄生品 24 和 12 mg/kg 剂量组非常显著地增加 SCE 频率($P<0.001, P<0.01$),藤黄炮制品 24 mg/kg 剂量组也明显地增加 SCE 频率($P<0.05$)。藤黄生品 6 mg/kg 剂量组,藤黄炮制品 1 和 6 mg/kg 剂量组无明显差异性。藤黄各组存在一定的量效关系。结果见表 2。

表 1 藤黄炮制品对小鼠骨髓 PCE 微核率影响

组别	剂量 (mg/kg)	含 MN 细胞数 (个)	微核率 (%)	量效关系 (r 值)
0.5%CMC-Na		10	2.0	
CPA	20	44	8.8***	
生品	24	39	7.8***	
	12	28	5.6**	0.9951
	6	20	4.0	
山羊血制品	24	21	4.2*	
	12	18	3.6	0.9286
	6	12	2.4	
清水制品	24	24	4.8*	
	12	14	2.8	0.9938
	6	11	2.2	
荷叶制品	24	24	4.8*	
	12	19	3.8	0.9986+
	6	17	3.4	
豆腐制品	24	25	5.0*	
	12	14	2.8	0.9148
	6	15	3.0	
高压蒸制品	24	23	4.6*	
	12	16	3.2	0.9956
	6	11	2.2	

$n=8$,PCE 数 5000 个/组,与 CMC-Na 组比较
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

3 讨论与小结

MN 形成和诱发 SCE 是研究生物体内受到致突变剂作用而引起遗传学损伤的两种方法⁽¹⁾,两者检测结果具有一致性。PCEsMN 代表染色体断裂及纺锤体损伤的过程,增加染色体损伤程度可增加 MN 率;SCE 代表 DNA 损伤和继发性修复过程,增加 DNA 分子损伤或削弱 DNA 修复能力均可增加 SCE 频率⁽²⁾,二者增加均说明在此条件下具有诱变活性物质存在。

研究结果表明,藤黄生品在剂量 24、12 mg/kg 时,具有极显著的致变性,藤黄炮制品在剂量 24 mg/kg 时,也具有显著的致变性,但远远弱于生品同一剂量组($P<0.001$)。藤黄生品在剂量 6 mg/kg 时及炮制

表 2 藤黄炮制品对小鼠骨髓细胞 SCE 频率影响

组别	剂量 (mg/kg)	SCE 总数 (个)	SCE 频率 (个/细胞)	量效关系 (r 值)
0.5%CMC-Na		614	2.558±0.668	
CPA	20	2614	10.892±1.517***	
生品	24	1908	7.950±1.184**	
	12	987	4.113±0.928**	0.9944
	6	703	2.929±0.899	
山羊血制品	24	893	3.721±0.910*	
	12	754	3.142±0.878	0.9985
	6	699	2.913±0.872	
清水制品	24	885	3.688±0.882*	
	12	792	3.300±0.790	0.9412
	6	630	2.625±0.627	
荷叶制品	24	884	3.683±0.926*	
	12	777	3.238±0.869	0.9582
	6	625	2.606±0.673	
豆腐制品	24	827	3.529±0.994*	
	12	788	3.283±0.834	0.9318
	6	674	2.808±0.767	
高压蒸制品	24	881	3.671±0.874*	
	12	774	3.225±0.770	0.9567
	6	619	2.579±0.592	

$n=8$,中期分裂相细胞 240 个/组,与 CMC-Na 组比较
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.05$

品在剂量 12、6 mg/kg 时均无致变性,说明藤黄经过炮制后在一定条件下可降低其致变性。各炮制品同一剂量组之间无显著性差异,即各种辅料及加热方式炮制藤黄并不影响其致变程度的降低。

藤黄各组对小鼠骨髓细胞中 PCEsMN 和 SCE 影响具有一定的量效关系,其致变性随着剂量的增加而增强。藤黄临床常用量 0.03~0.06 g/d,按人体表面积折算小鼠等效剂量为 3.9~7.8 mg/kg,提示根据临床用量,生品诱变的可能性大,炮制品诱变的可能性较小。从细胞遗传毒理角度可以说明古人炮制藤黄降低毒性是有一定道理。

藤黄生品及其炮制品的薄层层析图谱未显示出各样品组分之间的差异性,藤黄各组致变性的变化可能在于某些致变成分量的变化,其致变的物质基础有待进一步研究。

参考文献

1 Henderson L,et al. Mut Res,1984,126(1):47
2 王戈华,等. 遗传与疾病,1988,5(4):210
(1995-08-14)