

千里光提取物的小鼠骨髓微核试验

陈进军,于增杰,林红英,徐晓彬

(广东海洋大学农业生物技术研究所,广东湛江 524088)

摘要: 制备了千里光 70%乙醇提取物冻干粉,用昆明种雌雄性小鼠进行了该提取物的微核试验。结果发现,在雌性小鼠,中、高剂量的千里光 70%乙醇提取物能够引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高,而低剂量(130.9 mg/kg)千里光 70%乙醇提取物不能引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高;在雄性小鼠,高剂量(1309.0 mg/kg)千里光 70%乙醇提取物能够引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高,而低、中剂量的千里光 70%乙醇提取物不能引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高;而且小鼠骨髓细胞微核发生率与千里光 70%乙醇提取物具有剂量依赖性。说明千里光 70%乙醇提取物仅在较高剂量时能够对小白鼠产生致突变作用。

关键词: 千里光提取物;微核试验;致突变作用;小鼠

中图分类号: S853.75

文献标识码: A

文章编号: 1000-6354(2007)01-0020-03

千里光 (*Senecio scandens* Buch - Ham.) 系多年生蔓性草本植物,为菊科 (*Compositae*) 千里光属植物,在我国广泛分布于陕西、江苏、浙江、安徽、江西、湖南、四川、贵州、云南、广东和广西等地,各地多自产自销。千里光在我国作为中草药应用始载于唐代《本草拾遗》,异名有千里及、九里光、九里明和一扫光等数十个。1977年版《中国药典》(一部)和《贵州省中药材质量标准》(1988年版)记载了千里光的功效:“清热解毒,明目,止痒。用于风热感冒,目赤肿痛,泄泻痢疾,皮肤湿疹,疥疮”。《中药大辞典》也将千里光收入其中,其功能主治为:“清热,解毒,杀虫,明目。治各种急性炎症性疾病,风火赤眼,目翳,伤寒,菌痢等”^[1]。

关于千里光的毒性,很早就有记载,《本草拾遗》称其:“味苦,平,小毒”。而《本草图经》云:“味苦甘,寒,无毒”。由此可见,历史上对其毒性的认识不一。现代研究发现,千里光全草含有大量毛茛萘(flavoxanthin)、菊黄素(chrysanthemaxanthin)及少量β-胡萝卜素;还含生物碱、挥发油、黄酮苷、鞣质、酚类^[2]。据英国 MHRA 称,千里光属的各类植物均含有不饱和吡咯里西啶类生物碱(pyrolizidine alkaloids, PAs),对肝脏造成严重损害,引起人类肝小静脉闭塞症。不饱和吡咯里西啶类生物碱对动物也显现致癌性,诱导有机体突变和生殖毒性^[3]。陈进军等利用 TLC法,用 PAs 特异性强的 Ehrlich 试剂对千里光全草及其抗菌有效部位(即 70%乙醇提取物)中 PAs 进行检测发现,千里光全草含有生物碱和 PAs。进一步对千里光抗菌有效部位中总生物碱和 PAs 进行研究,结果未检出 PAs。可见进行千里光抗菌有效部位筛选和精制,可以清除其中的 PAs,提高千里光抗菌有效部位的安全性^[4]。但是千里光 70%提取物是否具有致突变性,

尚未见报道。笔者等采用小鼠骨髓微核试验^[5],研究了千里光 70%乙醇提取物的致突变作用,以丰富千里光抗菌有效部位的毒理学资料。

1 材料与方 法

1.1 千里光及其 70%乙醇提取物的制备

千里光于 8 月份采于广东省湛江市麻章区,由广东海洋大学农业生物技术研究所鉴定。将千里光阴干、粉碎后,过 20 目筛,称取 50 g,用 70%乙醇 500 ml 浸泡过夜,超声波萃取 1 h,85℃ 水浴回流 2 h,过滤,将滤液热浓缩至 50 ml,用乙醚萃取 3 次脱色素等杂质,分装于干净的青霉素瓶中,冷冻干燥成粉末,用石蜡封口后 4℃ 保存备用。

1.2 试验动物

昆明种小白鼠 100 只,雌雄兼有,体重(25 ± 2) g,购于广西医科大学实验动物中心,合格证号:桂 SCX - 2003,饲养观察 1 周后用于试验。试验动物的饲养环境温度控制在 25 - 28℃,湿度为 60% - 80%,室内无对流风,饲料为广东医学院实验动物中心提供的小鼠全价颗粒料,自由采食、饮水,每天更换饮水 1 次,隔天更换 1 次垫料。

1.3 试验器材

冷冻干燥机(德国 Virtis 公司,型号: BENCHTOP),旋转蒸发器(上海沪西仪器厂,型号 RE - 52),超声波振荡仪(宁波新芝仪器研究所,型号: SB - 5200),PHS - 3C 型数字酸度计(杭州梵隆仪器有限公司,型号: PHS - 3C),高压蒸汽灭菌器(上海博讯实业有限公司医疗设备厂,型号: YXQ - SG46 - 280S),带油镜头显微镜,细胞计数器。

1.4 试剂

乙醇(分析醇),甲醇(分析纯),甘油(分析纯),小牛血清(长春宝泰克生物制剂公司),环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司产品),生理盐水。吉姆萨储备液,取吉姆萨染料 1 g,甘油 66 ml,甲醇 60 ml。先将染料置于研钵内,加入少量甘油混合研细,再分次加入剩余的甘油继续研磨,然后转移置烧杯内,加入少量甘油混合研细,于 60

收稿日期: 2006 - 09 - 20

基金项目: 广东省科技攻关计划重点引导项目(2004B20201007); 广东省湛江市科技攻关计划项目(湛科[2006]65号)

作者简介: 陈进军(1967 -),男,博士,副教授,硕士研究生导师,国家公派加拿大 Guelph 大学访问学者,主要从事植物药药理学和毒理学研究。E - mail: jjchen777@yahoo.com.cn

静置 2 h,冷却后加入甲醇,混和静置 2周,过滤于棕色瓶内,存放于阴凉处。临用时用 pH 6.4的磷酸盐缓冲液配成 10%的应用液。

1.5 试验方法

将昆明种小白鼠 50只,随机分为 5组,每组 10只,雌雄各半。组为阴性对照组,、、组分别给予不同剂量的千里光 70%乙醇提取物,组为阳性对照组。其中阴性对照组给予生理盐水(SW),阳性对照组给予环磷酰胺(cyclophosphamide, CP) 40 mg/kg,千里光 70%乙醇提取物的 3个剂量分别为 1/3 LD₅₀、1/10 LD₅₀和 1/30 LD₅₀(已测得千里光 70%乙醇提取物的 LD₅₀为 3 927 mg/kg),腹腔注射,连续 2次,间隔 24 h。在第 2次给予供试物后 6 h,将各组小鼠脱颈椎处死,分别取其两侧股骨制骨髓涂片,将干燥的涂片置于甲醇液中固定 5 - 10 min,取出晾干,固定好的涂片用 1 10吉姆萨-磷酸盐缓冲液(pH 6.4)染色 20 min,染色后的涂片放入二甲苯中透明 6 min,取出后立即滴加中性树胶,覆以盖玻片后平置,采用双盲法阅片。每张盖玻片计数 1 000个嗜多染红细胞(polychromatic Erythrocyte, PCE),并计数含微核的嗜多染红细胞数,微核率按下式计算,并以千分率表示:

嗜多染红细胞微核率(‰) = (含微核的嗜多染红细胞数 / 嗜多染红细胞总数) × 1 000

用 t检验比较各组供试小鼠微核率的差异^[5-7]。

2 结果

各剂量组药物对小鼠微核率的影响结果见表 1。

表 1 千里光 70%提取物对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率的影响

组别	剂量 /mg kg ⁻¹	动物数 /只		PCE数 /个		微核数 /个		微核率 /‰	
		雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
SW		5	5	5 000	5 000	28	23	5.6 ± 0.8 ^C	4.6 ± 1.5 ^B
130.9	5	5	5	5 000	5 000	32	34	6.4 ± 0.8 ^{aC}	6.8 ± 1.3 ^{aB}
392.7	5	5	5	5 000	5 000	84	38	16.8 ± 3.2 ^{ba}	7.6 ± 1.9 ^{aA}
1 309.0	5	5	5	5 000	5 000	95	82	19.0 ± 4.6 ^{ba}	16.4 ± 3.1 ^{aA}
40(CP)	5	5	5	5 000	5 000	109	68	21.8 ± 5.8 ^c	13.6 ± 2.8 ^b

注: a、b和 c分别表示供试提取物不同剂量组与阴性对照组比较,差异不显著(P > 0.05),差异显著(0.01 < P < 0.05)和差异极显著(P < 0.01); A、B和 C分别表示供试提取物不同剂量组与阳性对照组比较,差异不显著(P > 0.05),差异显著(0.01 < P < 0.05)和差异极显著(P < 0.01)。

由表 1可知,阳性对照物(第 组)小鼠的骨髓嗜多染红细胞微核率最高,阴性对照物(第 组)最低。在雌性小鼠试验中,第 组分别与阴性对照组(第 组)和千里光 70%乙醇提取物低剂量组(第 组)相比较,小鼠骨髓细胞微核率差异均极显著(P < 0.01, P < 0.01);第 组和第 组小鼠骨髓细胞微核率分别和第 组比较,均差异显著(0.01 < P < 0.05),分别

为第 组的 3.0倍和 3.4倍;第 组小鼠骨髓细胞微核率与第 组相比,差异不显著(P > 0.05)。在雄性小鼠试验中,第 组分别与第 组和第 组相比较,小鼠骨髓细胞微核率均差异显著(0.01 < P < 0.05, 0.01 < P < 0.05);第 组与第 组相比,小鼠骨髓细胞微核率差异极显著(P < 0.01),是第 组的 3.6倍;但第 组和第 组分别与第 组相比,小鼠骨髓细胞微核率差异不显著(P > 0.05, P > 0.05)。

综上所述,在雌性小鼠,中、高剂量的千里光 70%乙醇提取物能够引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高,而低剂量(130.9 mg/kg)则不能引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高;在雄性小鼠,高剂量(1 309.0 mg/kg)千里光 70%乙醇提取物能够引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高,而低、中剂量则不能引起小鼠骨髓细胞微核发生率升高;而且小鼠骨髓细胞微核发生率对千里光 70%乙醇提取物具有剂量依赖性。

3 讨论

本研究采用小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验,对千里光 70%乙醇提取物的致突变作用进行了评价。研究结果表明,在雌雄兼有小白鼠,1 309.0 mg/kg的千里光 70%乙醇提取物能够引起小鼠骨髓细胞微核率显著升高,130.9 mg/kg的千里光 70%乙醇提取物不能引起小鼠骨髓细胞微核率升高。而 392.7 mg/kg的千里光 70%乙醇提取物能够引起雌性小鼠骨髓细胞微核率升高,但不能使雄性小鼠骨髓细胞微核率升高。因此可以说,130.9 mg/kg及其以下剂量的千里光 70%乙醇提取物不能引起小鼠骨髓细胞微核率升高,不具有致突变作用。而 392.7 mg/kg的千里光 70%乙醇提取物对雌性小鼠具有致突变作用,但对雄性小鼠却无致突变作用。

参考文献:

- [1] 程刚,夏东胜,李馨龄,等. 千里光的安全性研究现状及其对策探讨[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(7): 569 - 571, 606
- [2] 陈进军,王建华,耿果霞,等. 千里光化学成分鉴定及体外抗菌试验[J]. 动物医学进展, 1999, 20(4): 35 - 37.
- [3] 梁爱华,叶祖光. 千里光属植物的毒性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(2): 93 - 97.
- [4] 徐晓彬,林红英,冯羽裳,等. 千里光植物化学预试及抗菌有效部位化学成分检查[J]. 中兽医医药杂志, 2006, (6): 49 - 52
- [5] 曹佳,林真,余争平. 微核试验原理方法及其在人群监测和毒性评价中的应用[M]. 北京:医学科学出版社, 2000, 56 - 64.
- [6] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 北京:中国农业出版社, 2002, 227 - 234.
- [7] 俞渭江. 生物统计附实验设计[M]. 北京:农业出版社, 1980, 29 - 80.

Bone - marrow micronucleus test of extract from *Senecio scandens* Buch - Ham. in mice

CHEN Jin - jun, YU Zeng - jie, LN Hong - ying, XU Xiao - bin

(Institute of Agricultural Biotechnology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang Guangdong 524088, China)

Abstract: Frozen - vacuum - dried powder of extract from *Senecio scandens* Buch - Ham. with 70% of ethanol solution was prepared and a range of female and male Kunming mice were employed to conduct the bone - marrow micronucleus test. It was found that extract from *S. scandens* Buch - Ham. could increase the micronucleus rate in the female mice at both medium and high doses, but had no effect at low dose (130.9 mg/kg); that the extract could increase the micronucleus rate in male mice at high dose (1309.0 mg/kg), but had no effect at both low and medium doses, and that the micronucleus rate relied on the dose of the extract. Those results indicated that only higher dose of the extract from *S. scandens* can cause mutation in mice.

Key words: Extract from *Senecio scandens* Buch - ham.; bone - marrow micronucleus test; mutation; mice

临 · 床 · 集 · 锦

止嗽汤加减治疗家畜外感久咳

止咳效果好、无毒副作用等优点。

(青海省平安县草原站 810600 李得庆;
乐都县蒲台乡兽医站 赵元灏)

外感久咳为临床常见病症,多由上呼吸道感染、急性支气管炎、肺炎等引起。近年来,笔者自拟止嗽汤治疗家畜外感久咳 50例,治愈 45例,好转 3例,总有效率为 96%。疗效满意,报道如下。

1 症状

临床表现为咳嗽迁延不止,干性或湿性咳嗽,听诊两肺呼吸音粗厉,或伴有散在的干、湿啰音,诱咳呈阳性,舌质红、舌底黄、苔薄白,脉弦浮。

2 治疗

止嗽汤:紫菀、百部各 40 g,荆芥、白前、桔梗、蝉蜕、僵蚕、白芍、丝瓜络各 30 g,甘草 15 g。偏风寒者加紫苏叶 25 g;风热者加金银花 45 g;湿性咳嗽加苦杏仁 25 g;干性咳嗽加川贝母 30 g。1剂/天,一般 2 - 3剂,研末开水冲泡,胃管投服。

3 病例

2000年 12月 3日,患马咳嗽已 40余天,他医按感冒治疗后其它症状消失,唯咳嗽未见好转。症见:精神沉郁,双侧肺泡呼吸音粗厉,支气管呼吸音增强,诱咳阳性,呈湿性咳嗽,耳、鼻、四肢末端发凉,舌红、苔薄白,脉弦浮。治用止嗽汤加紫苏叶 25 g,苦杏仁 25 g,研末,开水冲调,胃管一次投服,2剂后症状大减,继服 1剂咳止病愈。

4 体会

外感咳嗽、久咳不愈,其病因多为外感表邪除而未尽,导致痰气郁结,肺失宣肃,引发咳嗽迁延不愈。治以疏风宣肺、止咳化痰为主。方中紫菀、百部止咳化痰,外感咳嗽不论新久,皆可取效;荆芥疏风解表,使表邪去而肺气宣,咳嗽宁;白前、桔梗、甘草宣肺利气,止咳消痰;蝉蜕轻升开宣肺窍;僵蚕祛风解痉,清热利咽,两药相伍,对痉挛性咳嗽和干咳有卓效;久咳伤阴,久病入络,故用白芍养阴血而除肺燥;丝瓜络通肺络和血脉,化痰顺气。诸药合用,有宣肺疏解、养阴和营、解痉止咳、降气化痰、利咽止痒之效,用于外感久咳,具有

自拟拔毒散治疗家畜湿疹、无名肿毒

近几年来,笔者采用自制拔毒散治疗家畜湿疹 26例(马 2例,山羊 11例,猪 10例,牛 3例);无名肿毒 11例(牛 6例,马 3例,羊 2例),均收到满意的效果。

1 药物配制

雄黄、枯矾各等份,共为细末,过筛即成。

2 治疗方法

2.1 如患部流出黄色液体者,可将药粉撒布,直至表面无渗出液,结痂后,再用纯芝麻油将药粉调成糊状涂擦。

2.2 若患部表面有干痂者,可先将干燥的痂皮除去,再撒布药粉。

2.3 无名肿毒患畜,用食醋将药粉调成糊状涂抹患处,药物干后,再用食醋浸润,2 - 3次/天,隔天换药一次,直到痊愈。

3 病例

例 1 2000年 6月,崇礼乡马庄村 10组马某的一头母牛,右下颌骨后侧有一个直径约 12 cm 的肿块,触之有热痛感,患牛食欲减少,反刍少而无力。遂用拔毒散 120 g,食醋 205 ml,将药粉调成糊状涂于患处,每天浸润食醋 3次,6天后治愈。

例 2 2001年 8月,东岸张胡庄村胡某的一只山羊,头部、胸部、肘后等患部均流出黄色液体,部分有结痂。他医按疥癣治疗多次不见效果,遂用拔毒散治疗,4次治愈。

4 体会

雄黄具有清热解毒、止痒的作用,枯矾能收敛、渗湿,二者配合有明显疗效。该药物配制方便,价格低廉,使用方法简单易行。

(河南省上蔡县动检站 463800 付泰 贾保生;
上蔡县畜牧站 胡红伟 邱玉环)