

青蒿素诱变性的测定结果报告

李广义* 杨立新** 金玉生* 戴日英*** 姚宝琴*** 薛宝云** 王志琪*

抗疟新药青蒿素是从菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 中提取的一种抗疟有效成分, 经过光谱、X-衍射及化学分析证明, 它是一个新型倍半萜内酯。药理研究⁽¹⁾及临床试验证明, 青蒿素具有毒性小、疗效好、起效快的特点。为了探讨其诱变性, 我们应用沙门氏菌/微粒体酶试验方法进行了测定。

一、实验材料:

突变种鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA 100、TA 98、TA 1535、TA 1537、TA 1538 由美国加利福尼亚大学生化系惠赠, 辅酶 I (NADH)、辅酶 II (NADP) 购自美国 Sigma 公司, 6-磷酸葡萄糖 (G-6-P)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G-6-P-D)、多氯联苯 (Aroclor-1254) 购于英国 BDH 公司, 雄性 Wistar 大鼠由中国医学科学院实验动物中心供给, 青蒿素由中医研究院中药研究所提供。

二、实验方法:

按照 Ames 介绍的沙门氏菌/微粒体酶实验方法⁽²⁾并参照矢作多贵江改进的振荡温育程序⁽³⁾对青蒿素进行定量测定。

将青蒿素溶于二甲亚砜, 浓度为 0.1 毫升溶液中含青蒿素分别为 300、30、3、0.3、0.03 微克。在 3000 微克/0.1 毫升浓度时, 加入 S-9 混合物或磷酸盐缓冲液即有青蒿素的沉淀析出。每支试管分别加入不同剂量的青蒿素液 0.1 毫升和新鲜培养的细菌培养液 0.1 毫升 (含有菌数 $1 \sim 2 \times 10^8$)。实验管中加入 0.5 毫升 S-9 混合物, 对照管中加入 0.5 毫升磷酸盐缓冲液。在 37℃ 水浴中振荡温育 20 分钟, 然后加入 2 毫升琼脂, 倒入最少营养琼脂培养皿中, 在 37℃ 下培育 48~72 小时, 计算回变菌落数。每项试验由三个平皿的数据平均求得。

每毫升 S-9 混合物含: 多氯联苯诱导的大鼠肝匀浆上清液 0.1 毫升, 氯化镁 8 微升, 氯化钾 33 微升, 6-磷酸葡萄糖 5 微升, 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 0.5 单位, 辅酶 II、辅酶 I 各 4 微升, 磷酸盐缓冲液 100 微升。

三、实验结果:

(从附表所列结果看出, 各不同剂量的青蒿素在有

附表 青蒿素与 5 个试验菌株的回变菌落数

组别 [△]	TA 100	TA 98	TA 1535	TA 1537	TA 1538
自发回变 溶剂二甲亚砜 + S-9	105 118	41 55	25 31	8 15	24 39
青蒿素(0.03) + S-9 青蒿素(0.03) + 缓冲液	141 79	40 46	14 14	14 5	19 12
青蒿素(0.3) + S-9 青蒿素(0.3) + 缓冲液	144 94	46 49	24 27	5 12	14 16
青蒿素(3.0) + S-9 青蒿素(3.0) + 缓冲液	102 85	38 44	33 20	17 18	39 20
青蒿素(30) + S-9 青蒿素(30) + 缓冲液	77 78	52 40	27 24	22 15	37 30
青蒿素(300) + S-9 青蒿素(300) + 缓冲液	80 41	44 40	26 24	22 16	23 24

[△] 表中括弧内数字为微克/0.1 毫升

或无 S-9 混合物存在情况下, 全部试验菌株的回变菌落数波动在相应细菌的自发回变数以及溶剂二甲亚砜加 S-9 对照的回变菌落数周围。没有观察到青蒿素引起细菌诱变的现象。

四、菌种特性及 S-9 活性的鉴定:

1. 在最少营养琼脂板上测定试验菌株的自发回变数表明, 在加入 S-9 时, 各试验菌株的自发回变数皆略有升高, 其数值都在正常变化范围之内 (附表)。

2. 在营养肉汤琼脂板上测定试验菌株对氨苄青霉素 (Ampicillin) 的抗药性, 不含 R-因子的菌株 TA 1535 在氨苄青霉素划线周围有生长抑制带, 而 TA 100、TA 98 则不受氨苄青霉素的抑制, 即有抗药性。

3. 对细菌进行结晶紫渗入实验以及紫外线切补修复实验。证明五个菌株的 *rfa* 基因及 *uvrB* 基因欠缺。

4. 应用 Ames 介绍的点试验方法测定细菌对标准

* 中国医学科学院肿瘤研究所

** 中医研究院中药研究所

*** 北京市工业卫生职业病研究所

诱变剂的反应。在不加 S-9 混合物条件下, 甲基甲烷磺酸脂(MMS)及 4-硝基喹啉氧化物(4-Nitroquinoline-N-oxide)对 TA 100、4-硝基喹啉氧化物及正定霉素(Daunomycin)对 TA 98、甲基硝基亚硝基胍(MNNG)对 TA 1535 以及 9-氨基吖啶(9-Amino-acridine)对 TA 1537 等均有诱变反应。在加入 S-9 混合物时, 2-氨基芴(2-Aminofluorene)对 TA 1538 有诱变作用, 说明这些试验菌株具有良好的回变性能。

5. 用多氯联苯诱导的雄性 Wistar 大鼠肝匀浆 S-9 活化致癌物黄曲霉毒素 B₁ 的能力是: 0.1 微克黄曲霉 B₁ 对 TA 100 的回变菌落数为 1800, 对 TA 98 为 500; 0.3 微克黄曲霉毒素对 TA 100 的回变菌落数为 2500, 对 TA 98 为 1300。以上结果表明, 我们诱导的 S-9 活性与 Ames 原法中介绍的 S-9 活性相接近。因此本实验所用 S-9 的活性可以满足诱变剂筛选的要求。

五、讨论:

使用鼠伤寒沙门氏菌/微粒体酶诱变实验检测环境中的致癌物是一种快速有效的方法, 目前已得到国内外的重视及广泛应用。我们使用 Ames 所建立的这种方法对青蒿素进行了检测, 没有发现青蒿素具有诱变性。我们使用的五种菌株以及 S-9 的性能良好, 从而保证了实验结果的可靠性。

以上实验结果表明在本实验条件下青蒿素不是诱变剂。

参 考 文 献

- (1) 中医研究院中药研究所药理研究室: 青蒿素的药理研究。中医杂志 (1): 23~33, 1979。
- (2) Ames BN: Mutat Res 31: 347~364, 1975。
- (3) 矢作多贵江: 环境致癌物质的微生物筛检方法。蛋白质 核酸 酵素 20(13): 1178, 1975。

慢 性 歌 喉 疾 病 的 中 药 治 疗

上海市文艺医院喉科 顾立德

慢性歌喉疾病是常用嗓音人员, 如演员、广播员、教师等的一种常见疾病。在临床实践中, 我们应用中药治疗, 收到良好疗效, 现介绍如下:

(一) 一般方 功用宣肺祛邪。用于声音嘶哑初起, 声带有轻度充血、水肿等病理改变者。处方: 胖大海、蝉蜕、杏仁、黄芩各 4.5 克, 凤凰衣、象贝母各 9 克, 千张纸 1.5 克, 马勃、甘草各 3 克。

(二) 功能性声门闭合不全方 功用补益肺气, 用于肺气不足, 发声时声门闭合不全, 嗓音中带有较多的气体摩擦音, 音量及最大声时减小, 演唱时感到气短和音质不干净者。处方: 人参 3 克(或太子参 9 克), 黄芪、淮山药、麦冬、白芍、白术各 9 克, 大枣 3 枚, 甘草 3 克。伴面色晄白, 乏力, 神倦, 小便淋沥, 甚至遗精、滑精者, 可加补骨脂、菟丝子、金樱子、肉苁蓉、巴戟肉各 9 克。

(三) 声带小结方 用于嗓音沙哑, 一侧或两侧声带边缘(尤其是前中三分之一交界处)有小白色结节样突起者, 处方为一般方加减。主要加入人参和黄芪等以补气, 因气足则小结自愈; 或用诃子肉、五味子各 9 克等收敛。伴声带充血者, 多为虚热所致, 宜加滋阴药, 用石斛、元参、北沙参各 9 克, 如伴粘液积聚

于声门者多是湿阻所致, 可加用利湿药, 如茯苓皮、苡米仁、泽泻、车前子各 9 克等。

(四) 治疗声带息肉方 用于嗓音严重嘶哑, 一侧或两侧声带边缘或其他部位有蒂或无蒂息肉者。中医认为这是气滞血瘀所致, 多属声带局部的实证, 治宜清热消肿, 活血化瘀。处方: 胖大海、蝉蜕各 4.5 克, 炙鳖甲、蛤壳各 12 克, 凤凰衣、丹参、桃仁、赤芍各 9 克, 千张纸、红花各 1.5 克, 甘草 3 克。治疗后无明显见效或息肉较大者, 则宜转手术。

(五) 治疗慢性喉炎方 用于咽部慢性充血, 淋巴滤泡增生, 或咽部干痛时有发作, 或声带长期充血、肥厚、干燥者。此多由虚热所致, 治宜滋阴降火, 但不宜过用凉药。处方: 生地、石斛、麦冬、元参、玉竹、百合、凤凰衣、象贝母各 9 克。阴虚虚象明显者加蛤壳 12 克, 珍珠母 15 克, 煅牡蛎 18 克。

上述各方中, 人参、黄芪等补气, 生地、元参、龟板、牡蛎等滋阴; 淮山药、白术、苡仁、大枣等健脾; 丹参、赤芍、红花、桃仁等活血祛瘀; 车前子、泽泻等利湿; 象贝母、竹沥等祛痰; 石斛、麦冬、元参等润喉生津; 胖大海、蝉蜕、凤凰衣、千张纸等宣肺祛邪。