

滋阴补阳方药的抗突变研究

王明艳* 赵凤鸣* 张旭* 吴海涛* 赵鸣芳* 周坤福* 徐力* 沈建伟*

摘要 以 ICR 纯种小鼠的骨髓细胞为实验材料,用诱变剂环磷酰胺(CPP)诱发的微核(MN)和姐妹染色单体互换(SCE)作指标,对部分常用的滋阴补阳方药进行抗突变研究,发现六味地黄汤、金匱肾气丸等 8 种方药对环磷酰胺诱导的 MN 有不同程度的抑制作用,其中 4 种方药对环磷酰胺诱导的 SCE 有明显的抑制作用。

主题词 @滋阴补阳方 突变/药物作用 骨髓细胞/药物作用

分子生物学认为基因突变是疾病发生的根源之一。在这种对疾病发生学认识的基础上,国际上出现了在亚细胞及分子层次上筛选抗变剂的研究动向。我们已完成的 3 个省级课题^[1~3],对常用的补益类单味药及补气养血方药进行了抗突变研究,为了达到补益药抗突变研究的完整性,同时考虑到中药复方能表现整体效应,比单味药更接近临床,我们进行了滋阴补阳方药抗突变的研究。通过实验发现六味地黄汤、金匱肾气丸、桂枝甘草汤、理中汤、益胃汤、增液汤、养阴清肺汤、三仙汤对环磷酰胺诱导的微核(MN)都有不同程度的抑制作用,并且六味地黄汤、金匱肾气丸、桂枝甘草汤、理中汤对环磷酰胺诱导的姐妹染色单体互换(SCE)也有明显的抑制作用,报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验用药:六味地黄汤按《小儿药证直诀》方,金匱肾气丸按《金匱要略》方,桂枝甘草汤、理中汤按《伤寒论》方,益胃汤、增液汤按《温病条辨》方,养阴清肺汤按《重楼玉钥》方,二仙汤按《妇产科学》方,以上中药均由南京中医药大学门诊部提供,经鉴定符合《中华人民共和国药典》规定。

1.2 药液配制:每种方药均加适量的蒸馏水浸泡 2 小时,煮沸 30 分钟,滤出头煎,药渣加蒸馏水适量,煮沸 30 分钟,滤出液与头煎合并,加热浓缩至 100ml。

1.3 试剂:环磷酰胺(CPP)购自上海华联制药公司。秋水仙素为上海化工试剂厂生产。药用活性碳为武汉市凌云化工厂生产。5-溴脱氧嘧啶核苷(5-BrdU)为瑞士 Fluka 公司产品。

1.4 实验动物:ICR 纯种小鼠,体重 20~22g,雌雄不限,由南京中医药大学实验动物中心提供。

1.5 实验方法:将小鼠分为 5 组,每组 5 只。阴性对照组予蒸馏水灌胃,0.5ml/只/日,共 10 天。阳性对照组在第 9 天时腹腔注射 CPP,余同阴性对照组。I、II、III 用药组药液剂量分别为 0.125ml/只、0.25ml/只、0.5ml/只,共灌胃 10 天,第 9 天腹腔注射 CPP。CPP 剂量 MN 为 40mg/kg, SCE 为 20mg/kg。

MN 制片及观察:将 5 组小鼠处死取骨髓细胞置生理盐水中,离心(1000r/min)8 分钟,去上清液,加 37℃预温的 0.4%KCl3ml,置 37℃低渗 8 分钟,加入固定液(甲醇、冰醋酸为 3:1)1ml,离心后去上清液,再加入固定液 3ml 混匀,连续固定两次后气干法滴片,用 Giemsa 染液(pH6.4)染色 8 分钟,每组标本统计 5000 个细胞,计算出微核率,方法同文献[4]。

SCE 制片及观察:5 组小鼠处死前 24 小时腹腔注射活性碳吸附的 5-BrdU 1.5g/kg,处死前 4 小时腹腔注射秋水仙素(5mg/kg),SCE 制片过程基本同 MN 法,低渗时间为 30 分钟,较 MN 法长,且所制片子需置 37℃老化 1~2 天后置 56℃水浴锅上,用氯化钠枸橼酸钠液浸润,30W 紫外光(灯距玻片 6cm)照射 30 分钟,用 3%Giemsa 染液(pH 为 6.8)染色 8 分钟。于油镜下每组小鼠观察 100 个左右有差别染色的中期分裂相,统计出 SCE 均数,作统计学分析。

2 结果

2.1 MN 结果:六味地黄汤、金匱肾气丸等 8 种方药对环磷酰胺诱导的 MN 的抑制作用,见表 1。阳性对照组与阴性对照组相比微核率有显著差异($P < 0.05$),说明 CPP 有致突变作用,而用六味地黄汤、金匱肾气丸、理中汤、桂枝甘草汤、增液汤、益胃汤、二仙汤、养阴清肺汤处理以后,再加 CPP 则这些用药组的微核率与阳性对照组相比有不同程度的降低,说明这些方药对环磷酰胺诱导的微核有一定程度的抑制作用。

2.2 SCE 结果:在发现上述 8 种方药具有抑制 MN 升高功效基础上,我们以 SCE 为指标进行实验,发现六味地黄汤、金匱肾气丸、理中汤、桂枝甘草汤又对环磷酰胺诱导的 SCE 有明显的抑制作用,见表 2。阳性对照组与阴性对照组的 SCE 频率有显著差异($P < 0.05$),进一步说明 CPP 的致突变作用,4 种方药的各个剂量组 SCE 频率均与阳性对照组有显著差异,表明它们有明显的抑制 SCE 升高的作用。

基金项目:国家中医药管理局课题(95Y1214)

* 南京中医药大学基础医学院,南京市汉中中路 282 号(210029)

收稿日期:1999-03-05

表1 8种方药对环磷酰胺诱导的MN的抑制作用

组 名	动物数	观察细胞数	MN 数	微核率(‰)	
阳性对照组	5	5000	46	9.2 *	
阴性对照组	5	5000	11	2.2	
养阴清肺汤	I	5	5000	25	5.0 *
	Ⅱ	5	5000	24	4.8 *
	Ⅲ	5	5000	22	4.4 *
理中汤	I	5	5000	14	2.8 *
	Ⅱ	5	5000	15	3.0 *
	Ⅲ	5	5000	19	3.8 *
二仙汤	I	5	5000	40	8.0
	Ⅱ	5	5000	25	5.0 *
	Ⅲ	5	5000	13	2.6 *
金匱肾气丸	I	5	5000	16	3.2 *
	Ⅱ	5	5000	23	4.6 *
	Ⅲ	5	5000	21	4.2 *
桂枝甘草汤	I	5	5000	24	4.8 *
	Ⅱ	5	5000	17	3.4 *
	Ⅲ	5	5000	13	2.6 *
益胃汤	I	5	5000	34	6.8
	Ⅱ	5	5000	21	4.2 *
	Ⅲ	5	5000	14	2.8 *
六味地黄汤	I	5	5000	16	3.2 *
	Ⅱ	5	5000	14	2.8 *
	Ⅲ	5	5000	13	2.6 *
增液汤	I	5	5000	11	2.2 *
	Ⅱ	5	5000	10	2.0 *
	Ⅲ	5	5000	13	2.6 *

*与阳性对照组比较, $P < 0.05$ 表2 4种方药对环磷酰胺诱导的SCE的抑制作用($\bar{x} \pm s$)

组名	动物数	SCE总数	SCE均数/中期分裂相
阳性对照组 (I)	5	856	8.56±0.279
阴性对照组 (I)	5	150	1.50±0.119*
六味地黄汤	I	573	5.62±0.149*
	II	587	5.59±0.167*
	III	497	4.97±0.201*
金匱肾气丸	I	537	5.37±0.194*
	II	584	5.46±0.153*
	III	549	5.49±0.146*
桂枝甘草汤	I	504	5.04±0.368*
	II	369	3.69±0.149*
	III	290	2.90±0.143*
阳性对照组 (II)	5	895	8.52±0.225
阴性对照组 (II)	5	148	1.45±0.108△
理中汤	I	697	6.97±0.197△
	II	720	7.13±0.183△
	III	701	6.87±0.143△

*与阳性对照组(I)比较, $P < 0.05$; △与阳性对照组(II)比较, $P < 0.05$

3 讨论

DNA分子遗传信息的完整正确是机体维持正常生命活动的重要保证,当机体受到一定量诱变剂(如环磷酰胺等)作用时,DNA可形成交叉联结,发生断裂等^[5],DNA的结构和功能会受到损害,机体则有可能

出现疾病,若在症状还未显出之前用抗变剂进行纠正,便可将疾病消灭于萌芽状态^[6,7]。我们近年来的研究表明,一部分补益类单味药和方药具有拮抗染色体突变的作用,这种拮抗作用表现在能抑制环磷酰胺诱导的MN和SCE,但这些药的拮抗作用强弱不一,有的同时具有上述两种抑制作用,有的只有其中一种作用。

六味地黄汤、金匱肾气丸等为补益类方药,临床上具有治疗阴虚、阳虚病证的功效,通过实验我们认为这种“补”的现代科学基础可能在于:(1)细胞外作用:直接灭活外源性诱变物,阻止其作用于细胞,或者通过对自由基的清除减少自由基对DNA影响;(2)细胞内作用:对染色体起保护作用,使其免受损伤(扶正固本),或激活DNA修复系统,提高DNA修复能力,使受损的DNA得到修复,恢复正常。

参考文献

- 宋为民,贾敏,法京,等.补气药对环磷酰胺诱发SCE的抑制作用.癌变、畸变、突变,1991,3(4):24.
- 王明艳,贾敏,吴洁,等.补气养血方药对环磷酰胺诱发的微核的抑制作用.中国优生与遗传杂志,1996,4(1):60.
- 贾敏,王明艳,法京,等.温阳药对环磷酰胺诱发MN的抑制作用.南京中医药大学学报,1995,11(6):36-37.
- 伏晓敏,乐俊仪.聚乳酸和乳酸-乙醇酸共聚物的致变性研究.癌变、畸变、突变,1990,2(1):14-16.
- 刘群良,张克纯,阳力争,等.抗衰老方对环磷酰胺所致小鼠染色质结构与功能损害的影响.湖南中医学院学报,1994,14(3):41-43.
- 曹群立,王慧敏,俞顺章,等.几种中药抗诱变作用的研究.癌变、畸变、突变,1990,2(2):24-28.
- 许俊才.抗突变研究近况.癌变、畸变、突变,1993,5(1):36.

国际中西医结合骨科学术会议征文

经中国科技部[国外审字(2000)0201号]及国家中医药管理局[国中医药外联(2000)17号]文件批准,由中国中医研究院骨伤科研究所、中国中医研究院望京医院和《世界医学杂志》社联合主办的“国际中西医结合骨科学术会议”拟定于2000年第四季度在北京召开。会议将邀请国内外有关专家教授做专题讲座,并进行学术交流,现征文如下。1. 征文范围:中医、西医、中西医结合诊治骨折和脱位、类风湿性关节炎、骨与关节感染、颈肩腰腿痛、运动系统损伤、骨缺血性坏死、骨病及骨肿瘤、肢体畸形矫正、骨科护理、骨科相关生物力学及其它基础研究等。2. 征文要求:切合主题,资料准确,文稿3000字以内,附500字中英文摘要(请寄打印稿)。欢迎寄送软盘。来稿不退,请自留底稿。截稿日期:2000年7月30日。信封请注明“骨科会议征文”。请将稿件审理费50元汇至大会筹备处或开户银行账号。筹备处地址:北京市海淀区苏州街75号鼎钧大厦B106,邮编:100080,联系人:杨雪谨,于玮玮,电话:(010)82625522-1063,传真:(010)62648550, E-mail:bnihzb@21cn.com。开户银行:招商银行北京分行中关村支行,户名:卫理医学信息技术(北京)有限公司,帐号:人民币0382171110001。