

八种民间药在鼠伤寒沙门氏菌株 TA98 中的抗苯并芘致突变活性

孟正木 坂井至通¹ 小濑洋喜² 佐藤孝彦² 水野瑞夫²

(中草药化学教研室; ¹ 日本岐阜卫生研究所; ² 日本岐阜药科大学)

从植物药中寻找抗致突变物质已有报道^[1-2]。1987年我们对常用的“扶正固本”中草药进行抗致突变活性的调查^[3]，发现一些补益药如赤芍、玉竹、女贞子、锁阳、淫羊藿、何首乌等中草药的提取物也具有强的对抗苯并芘致突变作用。本文选择具有清热解毒、收敛固涩、活血化瘀功效的八种民间药进行了抗致突变的实验研究。

材料和方法

一、药材 八种药材(见表1)1986~1987年间采集或购于广西桂林或南京药材公司，并经品种鉴定。鲜品经风干，所有材料在提取前切碎并经蒸馏水洗涤两次。

二、提取物的制备

1. 水提取物 每种材料取量约50g，用蒸馏水500ml，100℃提取两次，每次1h，水提液过滤，于真空旋转蒸发器内浓缩，并经冰冻干燥成粉。

2. 醇提取物 取材料量50g，用60%乙醇300ml，回流提取3次，每次1h，减压下回收醇，残存水液经冻干成粉。

3. 乙酸乙酯及正丁醇提取物 取水或醇提取物1~2g，用水50ml溶解，滤出不溶物(Fr. I)。滤液用乙酸乙酯(30ml×5)提取，提取液经浓缩得乙酸乙酯提取物(Fr. E)。水层继以水饱和正丁醇(20ml×10)提取，回收溶剂得正丁醇提取物(Fr. B)。残留水层冰冻干燥得水残留物(Fr. H)。

三、抗致突变活性测定 精确称取每种提取物50~100mg，溶于0.1mol/L磷酸缓冲溶液(pH 7.4)1ml，121℃灭菌20min。在每个试验管中加入试验溶液0.1ml、肝脏微粒体S-9混合物调整液(以Aroclor处理过的大鼠肝脏配制)0.5ml，需组氨酸的鼠伤寒沙门氏菌株TA98 0.1ml、苯并芘(5μg/0.1ml DMSO) 0.1ml。采用短期试验法改良的Ames系统^[4]进行抗致突变活性的生物测定，按下式计算，结果见表1。

$$\text{活性}\% = [1 - (s - n / p - n)] \times 100$$

s-当样品与苯并芘加到鼠伤寒沙门氏菌株TA98中时的回复突变菌落数。N-自发回复突变菌落数。P-无样品下苯并芘的回复突变菌落数。

为考察抗致突变活性是否由于细胞毒所致，同时进行了提取物存在下B-2培养基上的培养，观察存活菌落数以评价样品对试验菌株细胞的毒性，结果见表1。

$$\text{细胞毒作用}\% = [n - s / n] \times 100$$

s-当提取物和苯并芘加到需组氨酸鼠伤寒沙门氏菌株TA98时的存活菌落数。n-自发存活菌落数。

四、浓度效应曲线 将提取物用0.1mol/L磷酸缓冲液稀释成4个浓度，每个浓度取双份进行测定，结果见图1。

五、不同溶剂提取物的活性比较 各取Fr. I、E、B、H相同量，同种溶剂溶解。抗致突变活性测定结果见表2。

Tab 1. Antimutagenic activity and cytotoxicity of various extracts (5 mg / plate) from folk medicine for the mutagenicity of benzo(a)pyrene (n = 3)

Botanical sources	Part	Antimutagenicity		Cytotoxicity	
		Activity, %	(S-N) / (P-N)	Activity, %	(n-s) / n
<i>Cassytha filiformis</i> (无根藤)	herba	99	(43-33) / (821-33)	7	(406-378) / 406
<i>Clematis chinese</i> (威灵仙)	herba	5	(376-35) / (392-35)	26	(193-142) / 193
<i>Diplocisia glaucescens</i> (秤钩风)	stem, leaves	61	(341-33) / (821-33)	17	(406-337) / 406
<i>Rubus palmatus</i> (复盆子)	fruit	102	(14-29) / (945-29)	19	(224-182) / 224
<i>Milletia championi</i> (硬骨藤)	root	39	(180-36) / (271-36)	79	(105-22) / 105
<i>Venillago leiocarpa</i> (翼核果)	rhizoma	99	(34-29) / (945-29)	16	(224-189) / 224
<i>Ampelopsis cantoniensis</i> var. <i>grossedentata</i> (甜茶藤)	herb	102	(8-29) / (945-29)	39	(224-137) / 224
<i>Oldenlandia hedgouidea</i> (牛白藤)	stem	77	(91-36) / (271-36)	80	(105-21) / 105

S: numbers of revertants when the plant extract and benzo(a)pyrene were added to *S. typhimurium* TA98

N: numbers of revertants by spontaneous mutation

P: numbers of revertants by benzo(a)pyrene

s: numbers of survivors when the plant extract and benzo(a)pyrene were added to *S. typhimurium* TA98

n: numbers of survivors by spontaneous mutation

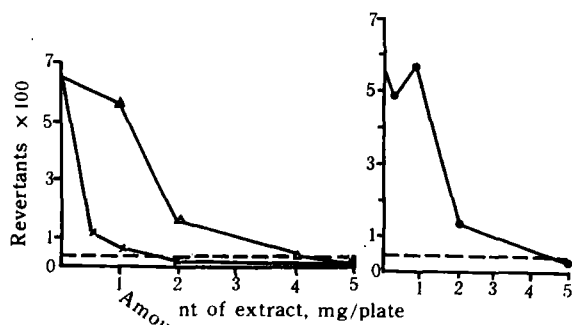


Fig 1. Dose-response relationship between the amount of extracts and the mutagenicity of benzo(a)pyrene

5 μ g of benzo(a)pyrene per plate and 0.5 ml of S9 mix were added. *Salmonella typhimurium* TA98 strain was used. —●— *Cassytha filiformis*; —△— *Rubus palmatus*; —×— *Ampelopsis cantoniensis* var. *grossedentata*; ——— spontaneous colonies

Tab 2. Antimutagenic activity of fractionated sample by solvents

Family name	Antimutagenic activity			
	I	E	B	H
<i>Cassytha filiformis</i>	++	—	—	—
<i>Rubus palmatus</i>	—	—	±	—
<i>Venillago leiocarpa</i>	—	++	±	—
<i>Ampelopsis cantoniensis</i> var. <i>grossedentata</i>	++	—	—	—

++: 90%–94%, ±: 65%–74%, —: <65%

结果和讨论

1. 一般认为样品对苯并芘致突变活性的不同作用方式可分为 5 种类型: (I) 降低致突变活性; (II) 杀死细胞作用, (III) 增加致

突变活性, (IV) 改变或降低活性, (V) 没有活性。本文结果显示有效的提取物均属于 (I) 型。

2. 降低苯并芘致突变大于 95% 有无根藤、复盆子、翼核果、甜茶藤; 具有弱作用有牛百藤、秤钩风; 没有活性的有威灵仙、硬骨藤。设以细胞毒作用大于 20% 为毒性指标, 则威灵仙、甜茶藤具有细胞毒性; 牛百藤、硬骨藤似有杀细胞作用。

3. 提取物经 121℃ 灭菌 20 min 仍有作用, 说明这些提取物对热稳定。无根藤、甜茶藤的有效成分存在于水不溶部分; 复盆子存在于正丁醇部位; 翼核果则存在于乙酸乙酯部位。有效部位中的抗致突变化学成分正在研究中。

关键词 抗致突变活性; 苯并芘; 无根藤; 甜茶藤; 复盆子; 翼核果

参考文献

- 1 Sakai Y, Nagase H, Ose Y, et al. Antimutagenicity of extracts from crude drugs in Chinese Medicine. *Mutation Res* 1986; 174: 1–4
- 2 Fujimoto T, Ose Y, Sato T, et al. Antimutagenic factors in aquatic plants. *Mutation Res* 1987; 178: 211
- 3 孟正木, 坂井至通, 小瀬洋喜, 他. 中国产中草药の抗変異原性. 環境変異原研究 1987; 9(2): 114
- 4 Yahagi T, Nagao M, Seiko Y, et al. Mutagenicities of *N*-nitrosoamines on *Salmonella*. *Mutation Res* 1977; 48: 121–30

Studies on Antimutagenicity of 8 Folk Medicine on Mutagenesis Induced by Benzo(a)pyrene in *Salmonella typhimurium* TA98

Meng Zhengmu, Sakai Y¹, Ose Y, Sato T, Mizuno M²

Department of Photochemistry; ¹Gifu Prefectural of Public Health, Gifu City, Japan; ²Gifu Pharmaceutical University, Gifu City, Japan

Antimutagenic activity of eight kinds of folk medicine that are used as heat-clearing and detoxifying and astringent was investigated by the reversion action with Ames's strains TA98 of *Salmonella typhimurium* on mutagenesis induced by benzo(a)pyrene. 60% Alcoholic extracts of *Cassia fliiformis*, *Ampelopsis cantoniensis* var. *grossedentata* and aqueous extracts of *Rubus palmatus* and *Ventilago leiocarpa* showed the strong decreasing effect of the mutagenic activity of benzo(a)pyrene. When the dose per plate was 5 mg, their inhibitory rate was more than 96%. There are 2 extracts, *Diplocisia glaucescens* and *Oldenlandia hedgolidea* showing weak activity, and two extracts of *Clematis chinese* and *Millettia championi* have not any effect. *Ampelopsis cantoniensis* var. *grossedentata* of antimutagenic extracts showed cytotoxicity effect.

Key words antimutagenicity; benzo(a)pyrene; *Cassia fliiformis*; *Ampelopsis cantoniensis* var. *grossedentata*; *Rubus palmatus*; *Ventilago leiocarpa*

???

【文摘 023】4 种异喹啉类衍生物对 α -肾上腺素受体的阻断作用 姚伟星, 夏国瑾, 江明胜, 黄文龙, 黄枕亚, 彭司勋. 中国药理学报 1989; 5(6): 349-53

在粉防己碱裂解产物上接不同取代基而衍化出的 4 种异喹啉类化合物, 其抗 α_1 及 α_2 肾上腺素受体的作用在大鼠肛尾肌及输精管标本上进行了比较。在肛尾肌标本上, 抗 α_1 受体的作用为 pA_2 6.5~5.1; 在输精管前列腺端, 拮抗 α_2 受体的效价强度为 pA_2 6.75~5.3。4 种化合物 (10 μ mol/L) 均不同程度地增加左房收缩性, 增加收缩的百分比为 42%~7%。此外 4 种化合物均可使右房频率减慢, 表现出不同程度的负性频率作用。

【文摘 024】中枢神经系统多巴胺-神经肽的相互作用 (综述) 平钊铎. 中国药理学报 1989; 5(6): 331-5

作者参考文献 26 篇就以下几方面进行了综述: 1. 多巴胺与胆囊收缩素的相互作用; 2. 多巴胺与神经紧张素的相互作用; 3. 多巴胺与神经肽相互作用的病理

生理学意义; 4. 神经肽在神经精神药理学中的地位。

【文摘 025】救心油中龙脑和异龙脑的 GC/FTIR 分析 邱宁婴, 吴桥. 药物分析杂志 1990; 10(1): 22-4

作者用 GC/FTIR 联机定性分析了救心油中的龙脑和异龙脑。GC 脱机进行定量分析, 根据外标工作曲线测定含量, 结果含量为: 龙脑 117.8% (W/V), CV=2.9%; 异龙脑 76.89% (W/V), CV=1.6%。总龙脑占 194.6% (W/V)。

【文摘 026】蛋白质定量方法的进展 (综述) 胡卓逸, 孙承琦. 生物化学与生物物理学报 1990; 17(1): 23-6

作者在简要比较常用蛋白质定量方法的基础上, 结合本人的工作, 选择性地叙述了 Lowry 法, 考马斯亮蓝 G-250 染料测定蛋白质的改进法, 还介绍了银染色定量法和 4-甲酸喹啉测定蛋白质含量的新方法。