

金荞麦的致突、致畸研究

马明福 李练兵 曾维三 周利民 徐小丽

(四川省重庆市计划生育科学研究所, 630020)

本文报道了中草药金荞麦的致突、致畸试验。研究表明,金荞麦 1—5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 的 7 个剂量,对 Ames 4 个标准菌株 ($\pm\text{S9}$) 未诱发阳性突变;对正定霉素和甲基甲烷磺酸酯所诱发的 TA98 和 TA100 菌株的回复突变,具有抗突变作用;对 NIH 系小鼠未见诱发骨髓嗜多染红细胞微核率增加;对中国仓鼠卵巢细胞染色体 ($\pm\text{S9}$) 无诱发畸变作用;对 NIH 系小鼠的生殖能力和胎鼠的生长发育未见不良影响,对胎鼠外观、骨骼、内脏无致畸作用。

关键词: 金荞麦, 致突变, 抗突变, 致畸

金荞麦 [*Fagopyrum cyrmosum* (Trev) Meisn] 属缩合性单宁化合物。民间用于治疗肺脓疡^[1]。抗癌试验表明该药有明显抑制实验动物 Lewis 肺癌、U14 宫颈癌 S180 肉瘤作用^[2]。在体外还能明显抑制小鼠白血病细胞 (P388) 和人胃腺癌细胞 (SGC 7901) 对 ³H-TdR 的掺入^[3]。过去虽对该药的药理作过许多工作^[4], 至今尚未见该药的致突、致畸研究报道。现将我们的研究结果报道如下。

一、材料和方法

(一) 受试样品

为金荞麦根乙醇提取物,咖啡色粉剂,中国科学院昆明植物研究所提供,批号 880208。

(二) Ames 试验

菌株由美国加利福尼亚大学 Ames 教授提供。检品用 (DMSO) 溶解。阳性对照剂为甲基甲烷磺酸酯 (MMS)、正定霉素 (Dau)、丝裂霉素 C (MMC)、2-氨基蒽 (2-AF)、1,8-二萘蒽 (1,8-Dan) 和环磷酰胺 (CP)。预培养平皿掺入法和结果判断均按标准[5]执行。

(三) 抗突变试验

选用 TA98 和 TA100(-S9) 菌株,参照 Yoshimichi^[6] 等报道的方法进行。试验时各剂量除加检品外,还分别加 Dau4 μg 和 MMS1 μg

培养。

(四) 微核试验

选用四川省医学科学院实验动物中心提供的健康 8kw NIH 系小鼠,随机分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半。设 LD50 的 $\frac{1}{2}$ 、 $\frac{1}{4}$ 、 $\frac{1}{8}$ 为 3.74、1.87 和 0.935 g/kg 三个剂量,并设阴性、溶剂和 CP 阳性对照组。各检品组与溶剂组在灌胃后 24 小时取材,CP 腹腔注射 48 小时后取材制片。每只小鼠镜检 1000 个嗜多染红细胞,观察计数微核出现率。

(五) 染色体畸变分析试验

中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞由华西医科大学细胞分子生物学研究所提供。用 Eagle's 培养基培养。经预试金荞麦半数细胞生长抑制浓度为 26.80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 实验用 26.80、13.40 和 6.70 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。以 MMC 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 CP 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作阳性对照。代谢物混合液 (S9mix) 最终浓度为 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。不加 S9mix 各检品组分别接触细胞 24、48 小时后制片,加 S9mix 作用 6 小时后换培养液培养 24 小时后制片。每组观察分析 100 个中期细胞。

Ma Mingfu et al.: Mutagenic and Teratogenic Tests of *Fagopyrum cyrmosum* (Trev) Meisn
本文于 1990 年 3 月 22 日收到。

(六) 致畸试验

选用健康性成熟 NIH 系处女鼠 175 只、雄鼠 90 只, 体重 $27 \pm 4g$, 随机分成 3 个检品组, 剂量为 935.25 (LD50)、467.63 和 233.81 mg/kg。溶剂对照为同容量的生理盐水 20ml/kg。阳性对照敌枯双 15mg/kg 的水溶液。以上药物均在妊娠的 7、8、9、10 和 11 天灌胃给药, 每天 1 次。第 18 天剖腹取胎, 每窝 $\frac{2}{3}$ 作胎

鼠骨骼检查, $\frac{1}{3}$ 胎鼠作内脏切片检查。

二、结 果

(一) Ames 试验

各检品组、阴性、溶剂和 S9mix 对照所得的固变菌落数经 4 次重复试验均在正常范围。而各种阳性诱变剂均显示阳性。所以金荞麦的 Ames 试验结果判为阴性, 见表 1。

表 1 金荞麦的 Ames 试验结果 ($\bar{x} \pm SD$)

剂量 μg/皿	TA97		TA98		TA100		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
5000	178.75 ±11.87	130.00 ±23.22	33.50 ±1.73	38.00 ±6.05	172.25 ±25.75	197.75 ±17.82	143.00 ±17.81	194.75 ±16.52
2000	180.00 ±35.59	141.75 ±16.00	36.50 ±11.41	47.75 ±12.97	185.75 ±8.95	179.00 ±30.36	166.75 ±21.28	212.50 ±17.99
1000	176.80 ±12.55		46.10 ±5.50		194.00 ±6.52		271.66 ±10.25	
500	172.00 ±10.63		39.40 ±6.69		194.00 ±13.11		226.80 ±17.83	
200	190.75 ±3.20	158.25 ±23.22	48.75 ±4.99	55.75 ±7.93	190.50 ±18.52	178.25 ±10.78	249.75 ±6.59	232.00 ±13.37
20	190.75 ±3.20	145.00 ±9.30	40.25 ±9.21	49.25 ±18.57	186.25 ±7.13	190.50 ±20.85	238.25 ±16.35	265.50 ±8.88
1	187.50 ±7.18	149.25 ±14.95	44.75 ±4.71	48.15 ±10.53	198.25 ±7.04	166.00 ±36.33	243.25 ±25.69	253.25 ±13.47
阴性 对照	175.37 ±11.87	147.75 ±15.43	39.00 ±7.77	38.00 ±6.05	197.50 ±11.80	179.00 ±8.08	253.83 ±4.83	231.25 ±19.68
溶剂 对照	173.37 ±30.66	148.00 ±26.85	39.87 ±9.86	48.50 ±15.58	179.12 ±24.43	188.75 ±16.23	242.33 ±23.33	213.00 ±43.05
S9混合 液对照		145.00 ±14.16		47.50 ±11.00		230.00 ±19.25		278.66 ±25.14
阳性 对照	MMS 0.5μl* 2231.00 ±452.00	2-AF 10μg* 1182.00 ±289.06	DAU 4μg* 1552.00 ±16.00	2-AF 100μg* 1146.00 ±136.29	MMS 1μl* 1673.00 ±98.65	CP 200μg* 635.00 ±92.12	MMC 0.5μg* 1289.00 ±190.00	DAN 60μg* 636.50 ±128.50

*/皿

(二) 抗突变试验

金荞麦在 20、200、500、1000、2000、5000/皿经两次试验, TA98 菌的每皿回变菌落数平均为 1548、43.33、46.00、39.40、37.50 和 32.75 个。TA100 菌平均为 1850、1112、855.50、823.50、629.00 和 152.76 个。阴性和溶剂对照 TA98 菌为 39.75 和 30.50 个, TA100 为 201.00 和 159.33 个。阳性对照 Dau 和 MMS 为 1504.00 和 2836.00 个, 呈明显阳性。TA98 菌除 20μg/皿外, 各剂量均显示了抗 Dau 的致突变性, TA100 各剂量的回复突变菌落数有剂量-效应

关系。

(三) 微核试验

各检品组的微核率分别为 1.56、2.90 和 1.00%。阴性、溶剂和阳性对照为 2.00、1.90 和 23.30%。各检品组与阴性和溶剂组比较, 无显著差异 ($P > 0.05$), 而阳性组则有显著差异 ($P < 0.01$)。

(四) 染色体畸变试验

金荞麦各检品组的染色体数目为 22 ± 1 。阴性对照未见有畸变。检品组的结构畸变与阴性对照组比较无显著差异 ($P > 0.05$), 而阳性

MMC(-S9) 与 CP(+S9) 组的结构畸变, 分别与阴性对照组比较呈明显阳性($P < 0.01$)。

各检品组的小鼠孕期体重增长与空白和溶剂对照比较, 未见明显差异($P > 0.05$), 对小鼠的生殖能力也未见异常。胎鼠的生长发育无

(五) 致畸试验

表 2 金荞麦对胎鼠生长发育的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别剂量 (mg/kg)	体重 (g)	身长 (cm)	尾长 (cm)	胎盘 (g)
金荞麦 935.25	1.04 ± 0.12	2.48 ± 0.12	1.12 ± 0.10	0.66 ± 0.17
金荞麦 467.63	1.07 ± 0.13	2.51 ± 0.11	1.12 ± 0.06	0.80 ± 0.20
金荞麦 233.81	1.11 ± 0.11	2.52 ± 0.09	1.16 ± 0.13	0.75 ± 0.20
溶剂对照 20.00	1.12 ± 0.13	2.52 ± 0.11	1.14 ± 0.10	0.74 ± 0.24
阴性对照 0	1.15 ± 0.14	2.50 ± 0.13	1.14 ± 0.12	0.72 ± 0.20
阳性对照 15.00	0.97 ± 0.17*	2.27 ± 0.23	0.65 ± 0.27**	0.51 ± 0.23

* ml/kg. ** 与阴性和溶剂对比, $P < 0.01$.

表 3 金荞麦对胎鼠的外观致畸效应

组别	剂量 (mg/kg)	胎鼠数	畸形		
			数	%	类型
金荞麦	935.25	17 ⁷	0	—	—
金荞麦	467.63	203	0	—	—
金荞麦	233.81	191	0	—	—
溶剂对照	20.00*	192	0	—	—
阴性对照	0	150	1	0.67	后肢畸形足,
阳性对照	15.00	133	62	46.61**	四肢畸形足, 脐疝, 腹腔脏器膨出, 短尾, 卷尾及弯尾等。

* ml/kg. ** 与阴性对照组比较, $P < 0.01$.

不良影响(见表 2)。对胎鼠外观、骨骼和内脏亦无致畸作用(见表 3、4)。而阳性对照组的吸收胎和死胎率明显高于阴性和各检品组($P < 0.01$), 其胎鼠有典型的外观(46.61%)、骨骼(47.72%)和内脏(34.78%)畸形。

三、讨论

本研究的 Ames 试验采用了预培养方法,

在 ± S9mix 代谢活化条件下, 未发现该药对 4 个标准菌株有诱发基因点突变的作用。

抗突变试验结果表明: 金荞麦能明显减少含诱变剂 Dau 和 MMS 产生的回复突变菌落数, 在金荞麦的各剂量, 经 MMS 诱发的 TA100 试验菌株的回复突变菌落数, 随金荞麦剂量的增加而减少, 且有剂量-效应关系。而 TA98 菌株在 200—500 μg/皿的每个剂量, 每皿菌落数经重复试验均在正常范围, 在 20 μg/皿时呈明显阳性。前者存活的菌落数既不增加也不减少, 这是否说明, 当金荞麦同 Dau 在一定剂量混合时, 降低了阳性诱变剂的作用? 值得深入研究。金荞麦的抗突变性问题还需用其它抗突变实验方法加以验证。

CHO 细胞的染色体畸变试验, 使药物在 ± S9 微粒体酶的条件下, 直接同细胞接触, 排除了体内其它酶系统干扰, 使某些需要作用才能表现出诱变性的间接诱变剂、致癌剂被检出。

表 4 金荞麦对胎鼠骨骼的致畸效应

组别	剂量 (mg/kg)	胎鼠数	畸形		
			数	%	类型
金荞麦	935.25	133	9	6.77	枕骨骨化不全, 胸骨骨化不全和缺失, 趾骨缺失。
金荞麦	467.63	139	8	5.76	枕骨骨化不全, 胸骨骨化不全和缺失, 多肋。
金荞麦	233.81	131	11	8.40	枕骨骨化不全, 胸骨骨化不全和缺失, 多胸、多肋。
溶剂对照	20.00*	146	9	6.16	枕骨骨化不全, 胸骨骨化不全, 多胸、肋骨断裂。
阴性对照	0	107	9	8.41	枕骨骨化不全, 胸骨骨化不全, 多肋。
阳性对照	15.00	88	42**	47.72	枕骨骨化不全, 胸骨骨化不全, 缺失, 五块胸骨融为一块, 肋骨分叉、断裂、融合、变形、椎骨膨大融合, 跟趾骨缺失或不全。

* ml/kg. ** 与阴性和溶剂对照组比较, $P < 0.01$

(下转第 38 页)

我国矮马选种获得可喜进展

王铁权

(中国农业科学院畜牧研究所)

中国农业科学院畜牧研究所同广西壮族自治区德保县畜牧局长期合作,在原有矮马基础上进一步矮化育种,培育出 4 匹矮马,24 月龄平均体高 83.75cm。按国际标准,这种马属于微型马 (MINIATURE HORSE)。这一成果,作为“七·五”国家科技攻关课题的一部分,已正式验收。

我国西南亚热带山区,自古便有同北方马来源相异的矮小马种,在汉代以来的志书中多处记载,满城中山王墓出土物中,保有这类马的遗骸。

1986 年 11 月,中国农科院畜牧所与德保县畜牧局协作,在矮马原产地建立保种基地,采用血型遗传标记选择矮公、矮母马互交(公马体高 97cm; 母马平均体高 95.5cm),纯种繁殖,得到显著矮化的后代。方法

是:从一般矮马中,按体尺低矮,血型 B 型,选出公 1 匹,母 10 匹,在天然草库伦中饲养,经过一年交配(因选定马中包括妊马),一年妊娠,终于产驹。迄至 24 月龄实得马驹 4 匹(图 1),繁殖成活率 40%。

表 1 各年龄矮马体高 (cm)

年 龄	选配试验组 (N = 4)	选外对照组 (N = 4)
3 月龄	55.70 ± 1.92	62.00 ± 3.74
6 月龄	67.25 ± 4.49	79.25 ± 1.63
12 月龄	80.75 ± 4.65	86.75 ± 3.63
24 月龄	83.75 ± 3.63	92.00 ± 1.87

由表 1 可见,试验组马体高,生后各年龄皆较对照组低矮,特别 12 月龄到 24 月龄间,试验组马生长速度



图 1 少年与 24 月龄矮马在一起

显著变慢,24 月龄试验马比对照马矮 8.25cm。这一矮化结果的取得,是由于通过血型遗传标记选种,选出矮性遗传力强的纯系矮马,在同质交配中强化了矮性

遗传的结果。这一结果为矮化育种提供新途径,并为矮马资源开发展示了广阔前景。

本文于 1990 年 10 月 6 日收到。

(上接第 26 页)

CHO 细胞对金荞麦 ±S9mix 条件下的试验结果表明,该药不诱发 CHO 的染色体畸变。

致畸试验 NIH 系小鼠本身有一定的自发畸变率(见表 3、4),该试验表明金荞麦对 NIH 系小鼠的外观、骨骼、内脏无致畸作用。

参 考 文 献

- [1] 南通市第三人民医院: 1974. 中草药通讯, 2:51-54.
- [2] 徐国辉等: 1982. 中草药, 3:48.
- [3] 马云鹏等: 1989. 中华肿瘤杂志, 11(2):95-97.
- [4] 刘文富等: 1981. 药学报, 16(4):247-252.
- [5] Maron, D.M. and B.N. Ames: 1983. *Mut. Res.*, 113:173-215.
- [6] Yoshimichi Sakai et al.: 1986. *Mut. Res.*, 174: 1-4.