

讨论

本文采用 Ames 和 MNPCE 试验筛选 7 种中草药的抗诱变作用, 发现牡丹皮、潞党参、菊花在 2 试验系统中均表现一定强度抗突变活性, 并有剂量效应关系, 提示所含抗诱变成份既能抗基因突变又能抗染色体畸变。周宗灿等报导⁽⁶⁾党参对 MNNG 诱导 AT100 突变有强抑制性, 对 BaP 诱发 TA100 有轻度抑制。本文潞党参对敌克松诱导 TA98 也有抑制作用, 说明同种中药具多种抗诱变成份。潞党参对敌克松诱导 TA98, 2-AF 诱导 TA100 有抗诱变性, 而对敌克松诱导 TA100, 2-AF 诱导 TA98 不呈现抗诱变性, 说明潞党参不经代谢活化存在抗移码型因子, 经代谢活化此因子被灭活, 同时活化其中抗碱基置换型致突变因子。有些中药在 2 试验系统结果不一样, 如宜木瓜在 Ames 试验中

对 2-AF 有强抗诱变性, 而对 MNPCE 不显抗诱变活性; 石斛和新鲜石斛在 Ames 中无抗变性, 而在微核试验中对 CP 有较强抗诱变性。进一步说明抗诱变机理复杂, 要考虑不同观察终点及在不同等级生物中表现效应。

参考文献

1. 孙士勇、韩悦. 癌化学预防药物研究的策略和方法. 国外医学药学分册, 1991; 18 (5): 257.
2. 阮萃才, 等. 食品的抗突变作用与癌的化学预防. 广西医学院学报, 1989; 6 (1): 68.
3. 周宗灿, 等. 绿茶及几种茶酚的体外抗突变和抗脂质过氧化作用. 卫生毒理学杂志, 1988; 2 (1): 10.
4. 邱佳信, 等. 中药的反突变作用研究. 上海医药杂志, 1985; (9): 46.
5. Maron DM, Ames BN. Revised methods for Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res*, 1983; 113:173-215.
6. 周宗灿, 等. 57种中草药甲醇提取物体外抗致突变作用筛选. 卫生毒理学杂志, 1989; 3 (4): 212.

醋氨己酸锌药物的致畸、致突变性研究

唐明德 高泽宣 易义珍 陈律 苏志杰 俞远京

湖南医科大学环境卫生学教研室 湖南医科大学动物实验中心 长沙 410078

摘要 为明确新药醋氨己酸锌药物是否致畸、致突, 运用致畸试验、Ames 试验、微核试验作一检测。结果表明: 醋氨己酸锌(Zinc Acexmate)剂量在 406.0mg/kg、203.0mg/kg 和 101.5mg/kg 时, 均不引起胎仔发生外观及骨骼和内脏的畸型, 是 1 种非致畸药物; 在致突变 Ames 试验中, 醋氨己酸锌浓度为 0.5、5.0、50、500 和 5000 μ g/皿, 经 2 次重复试验均未诱导 TA97、TA98、TA100 和 TA102 的回变菌落数增加 (在+S9 与-S9)。微核试验中, 醋氨己酸锌药物剂量为 2030.0mg/kg、406.0mg/kg 和 81.2mg/kg 时, 同样均不诱发 LACA 小白鼠的骨髓嗜多染红细胞的微核率增加。因此, 该药是 1 种非致突变性化学物质。

关键词 醋氨己酸锌; 致畸变; 致突变

醋氨己酸锌是湖南开发的 1 种新型的 抗消化性溃疡药物。该药的分子式

$C_{16}H_{28}N_2O_6ZN$, 分子量为 409.8, 系白色结晶性粉末, 无臭、无味, 在水中溶解, 在乙醇和氯仿中极微溶, 在稀盐酸溶解, 氨水中易溶。该药的纯度为 98.5% 以上。据报导该药急性经口的 LD50 为 4060mg/kg。但其致畸、致突变性尚不清楚, 为此, 我们对醋氨己酸锌药物进行该方面的研究。

材料和方法

1. 致畸试验

试验药物醋氨己酸锌由省药业公司供给。试验动物由我校动物实验中心提供。选用成年健康体重在 200g 左右未交配的 wistar 雌性大白鼠和体重在 240g 左右的 Wistar 雄性大白鼠作为试验动物。按照常规的致畸方法准备试验的受孕母鼠, 凡镜检发现阴道有精子时定该鼠为受孕的第 0d⁽¹⁾, 将受孕的雌鼠按随机的方法分成 406mg/kg(1/10 LD 50)、203mg/kg(1/20 LD 50) 及 105.5mg/kg(1/40 LD 50) 3 个药物剂量组和 1 医用环磷酰胺 20mg/kg 阳性对照组及 1 自由饮水的阴性对照组。每个试验组为 20 只受孕的大白鼠。于受孕的大白鼠第 0、3、7、10、13、16 和 20d 分别称重 1 次。药物各组的受孕大白鼠于受孕的第 7d 开始经口灌胃给醋氨己酸锌, 直至第 17d。阴性对照组于受孕的第 10d 腹腔注射 20mg/kg 环磷酰胺⁽²⁾, 阴性对照组不作处理。各组均自由进食和饮水。受孕的母鼠于第 20d 脱颈处死, 剖腹观察并取出胎仔, 测量身长、尾长、称重、辨性别、称胎盘及子宫重; 观察黄体数、着床数、吸收及死胎情况, 计算出胚胎损失率〔胚胎损失率 $C\% = \frac{\text{吸收数} + \text{死亡数}}{\text{着床数}} \times 100$ 〕。

将 1/2 的胎仔剥皮去掉内脏后, 依次放入 85% 乙醇、KOH、茜素红液、透明 A、

B、C 液作骨髓检查, 另 1/2 的胎仔放入 Bousin 氏液作内脏检查。在试验期间观察各组动物的生长及流产情况⁽³⁾。

2. 致突变试验

2.1 Ames 试验 根据新药毒理技术要求, 选择组氨酸缺陷型的鼠伤寒沙门氏菌 TA98、TA97、TA100 和 TA102 和为试验菌株。经验证 S9 和试验菌株合格后, 用平皿渗入法, 每个浓度 3 个平皿, 在加 S9 和不加 S9 的条件下, 对醋氨己酸锌药物的浓度为 0.5、5.0、50、500 及 5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 进行 Ames 试验⁽⁴⁾, 同时设 S9、蒸馏水阴性对照组和黄曲霉毒素 B₁(AF-B₁) 阳性对照组。受试药物的回变菌落数为阴性对照组 2 倍以上, 有浓度-反应关系, 重现性好定为阳性结果, 否则为阴性结果⁽⁵⁾。

2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 选择由本校动物实验中心提供的体重为 18g 左右的成年健康的 LACA 小白鼠, 雌雄各半。根据文献的报导⁽⁶⁾, 受试药物剂量为 2030mg/kg(1/2 LD 50)、406mg/kg(1/10 LD 50) 和 81.2mg/kg(1/50 LD 50) 3 个组和剂量为 300mg/kg 医用环磷酰胺阳性对照组及阴性对照组。根据预试的结果, 每组选用 8 只动物、雌雄各半, 采用 2 次给药, 给药后 30h 处死动物。按照常规方法进行的操作⁽⁶⁾。最后每只动物在油镜下观察 1200 个嗜多染红细胞, 每一试验组共观察 9600 个嗜多染红细胞, 计算出各组出现的微核率。同时观察嗜多染红细胞与成熟红细胞的比列。

结 果

1. 致畸试验

在致畸试验间, 医用环磷酰胺阳性对照组有 3 只受孕母鼠发生自发性流产。醋氨己酸锌高剂量组的母鼠, 因药物的蓄积

死亡了 8 只受孕的母鼠，其死亡时间均在连续给药的第 7d 后死亡。各试验组对 Wistar 大白鼠的致畸结果，经统计其孕鼠

的体重变化见表 1。从孕鼠的体重变化可以看出，阳性对照组孕鼠的平均体重从给药的第 10d 起逐渐下降，而其余各组孕鼠

表 1 各试验组孕鼠体重变化情况 ($\bar{x} \pm s$) (g)

试验组	第 0d	第 7d	第 10d	第 13d	第 16d	第 20d
阴性对照组	258.4 ± 15.9	266.6 ± 16.8	272.6 ± 20.1	282.8 ± 18.9	303.9 ± 21.7	331.4 ± 23.7
醋酸己酸锌 101.5mg/kg	250.6 ± 19.6	250.9 ± 19.4	261.6 ± 23.2	272.8 ± 21.9	286.6 ± 21.8	313.0 ± 23.7
203mg/kg	237.1 ± 22.1	237.7 ± 18.5	247.9 ± 19.7	261.3 ± 17.7	275.3 ± 28.1	280.8 ± 22.8
406mg/kg	259.9 ± 9.6	257.1 ± 10.7	266.8 ± 10.3	276.6 ± 14.7	286.6 ± 16.9	206.1 ± 14.8
阳性对照组	254.6 ± 16.1	/	270.9 ± 25.1	249.9 ± 26.2	221.5 ± 26.7	230.8 ± 30.8

的平均体重随妊娠天数的增加而增加。且药物组孕母鼠的平均体重与阴性对照组的

结果相似。各试验组母鼠的几个主要统计指标结果见表 2。从该表的结果得知，醋酸己酸锌药物的高剂量组受孕的母鼠数 (12 只) 低于阴性对照组 (17 只)、醋酸己

表 2 各试验组母鼠几个主要指标结果

试验组	交配母鼠数 (只)	受孕母鼠数 (只)	黄体数 (个)	着床数 (个)	活胎仔总数 (个)	吸收数 (个)	死胎仔数 (个)
阴性对照组	20	17	175	165	162	3	0
醋酸己酸锌 101.5mg/kg	20	17	180	167	163	8	1
203.0mg/kg	20	15	136	131	128	0	3
406.0mg/kg	20	12	108	104	102	3	3
阳性对照组	20	15	130	129	0	77	52

酸锌的低剂量组 (17 只) 和中剂量组 (15 只)，且胚胎损失率醋酸己酸锌高剂量组 (5.8%) 明显高于阴性对照组 (1.8%) 和中剂量组 (2.3%)，而与低剂量组 (5.3%) 的结果

相似，但远低于阳性对照组。各试验组胎仔的身长、体重、畸型情况见表 3。从该表的结果看出，胎仔胸骨第 2、5 块骨各试验组均有缺损，但率的统计无显著性差

表 3 各试验组对胎仔的影响结果

项 目	阴性对照组 (蒸馏水)	醋酸己酸锌			阳性对照组 (环磷酰胺)
		101.5mg/kg	203mg/kg	406mg/kg	
身长($\bar{x} \pm s$)CM	3.47 0.27	3.47 0.32	3.58 0.23	3.35 0.27	无活胎仔
体重($\bar{x} \pm s$)g	3.76 0.51	3.78 0.71	3.88 0.65	3.52 0.34	无活胎仔
外观畸型	无	无	无	无	无活胎仔
骨骼畸型					
胸骨 2.5 缺损	3.8%	6.3%	4.3%	5.8%	无活胎仔
内脏畸型	无	无	无	无	无活胎仔

异。其他骨骼和全部内脏，阴性对照组和醋酸己酸锌药物组均无异常发现。

综合上述致畸试验各结果表明，醋酸己酸锌

已酸锌药物无致畸作用。

2. 致突变试验

2.1 Ames 试验

用平皿渗入法，在 37℃ 温度下培养 48h，各试验组的菌落回变数，2 次结果见表 4、5。从表 4 可以看出，S9 混合液的代谢酶的活性符合试验要求。醋氨已酸锌

药物各浓度组各菌株的回变菌落数均接近于阴性对照组 H₂O 的菌落回变数。说明该药物不引起各试验菌株的回变菌落数增加。表 5 中各试验组的 Ames 结果近似于表 4。该 2 表的结果表明，醋氨已酸锌是 1 种非致碱基发生突变的药物。

表 4 各试验组第 1 次 Ames 的结果($\bar{x} \pm s$)

受试物浓度 μg/皿	TA98		TA100		TA97		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
阴性对照组 (蒸馏水)	25.6±0.5	36.0±3.0	127.0±2.5	135.6±11.5	7.6±0.5	13.0±1.0	9.0±1.4	14.6±2.5
醋氨已酸锌								
0.5	27.0±3.0	31.6±4.7	116.6±13.5	137.5±9.8	10.0±2.0	17.0±3.0	9.6±0.5	13.6±1.5
5	18.3±3.5	19.3±3.0	137.3±1.4	143.0±4.1	9.0±2.6	12.0±2.0	9.0±3.6	13.6±2.0
50	15.6±4.0	15.3±2.5	135.0±13.5	143.0±17.2	9.3±3.0	10.0±2.0	6.6±1.5	8.6±3.1
500	10.0±2.0	11.6±2.0	116.7±17.2	156.0±8.7	13.3±4.2	14.3±6.0	7.3±3.1	11.3±4.1
5000	14.0±3.5	13.6±4.7	141.7±20.5	156.0±10.5	12.6±5.0	12.6±3.0	11.0±2.6	9.3±4.1
S9 混合液		22.6±2.5		163.0±15.0		10.0±2.0		13.3±3.0
AF-B1		3720.0±152.8		2939.0±121.0		1396.6±175.5		164.6±13.0

表 5 各试验组第 2 次 Ames 的结果($\bar{x} \pm s$)

受试物浓度 μg/皿	TA98		TA100		TA97		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
阴性对照组 (蒸馏水)	16.3±3.2	17.3±3.1	125.0±2.6	148.3±2.1	8.0±1.5	13.6±3.2	10.0±2.0	12.0±2.0
醋氨已酸锌								
0.5	18.3±6.5	15.6±4.7	131.6±7.0	144.6±4.1	11.3±3.0	14.3±5.1	9.0±3.6	11.3±3.1
5	12.3±2.5	16.6±3.0	144.0±5.3	149.6±2.8	9.0±2.6	11.6±4.7	9.0±2.3	10.3±2.5
50	14.6±2.5	16.1±2.7	140.0±10.0	151.6±10.5	11.3±3.0	13.3±4.1	10.3±3.5	10.0±2.0
500	15.3±3.0	16.6±3.0	139.0±11.0	155.6±7.5	12.0±2.0	18.0±2.0	10.0±2.0	13.0±4.1
5000	14.6±3.0	17.0±2.6	146.0±4.1	158.0±1.5	12.0±2.0	14.0±4.0	10.6±3.0	12.0±4.0

2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

各试验组小鼠骨髓嗜多染红细胞出现

的微核数及各试验组嗜多染红细胞与成熟红细胞的的比例见表 6。该表的结果看出，

表 6 各试验组骨髓嗜多染红细胞出现的微核数

试验组	观察嗜多染红细胞数(个)	出现的微核细胞数(个)	微核率(%)	嗜多染红细胞成熟红细胞
阴性对照组 (蒸馏水)	9600	16	1.7	17%
醋氨己酸锌 81.5mg/kg	9600	16	1.7	17%
406.0mg/kg	9600	17	1.8	16%
2030.0mg/kg	9600	17	1.8	18%
阳性对照组 (环磷酰胺)	9600	336	35.0	20%

除医用环磷酰胺阳性对照组骨髓嗜多染红细胞出现的微核率远超过 LACA 小白鼠骨髓嗜多染红细胞正常出现的微核率外, 其余各试验组骨髓嗜多染红细胞出现的微核率均在正常范围内。该结果表明, 醋氨己酸锌药物是 1 种非染色体的断裂剂。

综合上述 Ames 和微核 2 试验的结果说明: 醋氨己酸锌药物是 1 种非致突变物。

参考文献

1. 徐厚恩, 张铎主编. 卫生毒理学基础. 第1版, 北京: 北京医科大、中国协和医科大联合出版社出版,

1991: 138-146.

2. 王爱平, 张清林, 王治乔. 环磷酰胺对小鼠最佳致畸剂量及给药时间的研究. 卫生毒理学杂志, 1991; 5(2):115.
3. 张幼辰, 成志强. 柠檬酸对大鼠的致畸作用. 上海医科大学学报, 1987; 14(3):195.
4. Ames BN, et al. Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella* / Mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res*, 1975; 31:347.
5. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res*, 1983; 113(3/4):175.
6. 黄幸舒, 陈星若. 环境化学物致突变致畸致癌试验方法. 第1版, 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985: 218-228.

5%菌毒清对小鼠的致畸作用研究

孙 蓉 李贵海

山东省中医药研究所药理研究室 济南 250014

摘要 5%菌毒清给小鼠 700mg/kg 的剂量时, 未发现有一般生殖毒性。致畸实验及围产期毒性实验表明: 本品既无致畸作用, 也无致仔鼠发育障碍及生殖功能低下的作用。

菌毒清的研制与开发研究是国家“七·五”火炬科技计划之一, 主要用于农、禽、水产、畜牧业的杀菌、抗病毒; 其应用效果显著, 在目前菌毒清的研制成功填补了