

国产 3,5 - 二异丙基水杨酸铜的抗突变作用研究

黄 杰¹ 范元中² 张 明³

¹ 南京市卫生防疫站 南京 210003 ² 江苏省环境监测站 ³ 扬州大学工学院

摘要 在实验室条件下,研究了国产 3,5 - 二异丙基水杨酸铜的抗突变作用。结果表明,该化合物对强阳性诱变剂所致的生物突变过程具有显著的抑制作用并呈明显的剂量反应关系。

关键词 3,5 - 二异丙基水杨酸铜;抗突变

STUDY ON THE ANTI-MUTAGENESIS OF $\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$ SYNTHESIZED IN YANGZHOU UNIVERSITY

Huang jie, et al

Nanjing Sanitary Anti-epidemic Station, Nanjing 210003

Abstract The anti-mutagenesis of $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ synthesized in Yangzhou University was studied. It was shown that there was a significant inhibitory effect in mutagenesis and a Dose-response relationship.

Key words $\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$; anti-mutagenesis

据报道,微量元素 Cu 的某些螯合物包括 3,5 - 二异丙基水杨酸铜 $\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$ 对肿瘤的促进和形成过程具有抑制作用⁽¹⁾,由于其可能具有生物模拟超氧化物歧化酶(SOD)功能,可保护机体减轻或免受放射性的危害^(2,3)。但是对化学物质引起的生物学突变过程是否具有阻抑作用和拮抗作用迄今尚鲜见报道。为此,我们采用国产的 $\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$ 作为受试物进行了研究。

材料与amp;方法

1 材料

受试物 $\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$,扬州大学工学院合成,纯度 99.9%,用 0.25% 的吐温 - 80 及生理盐水做溶剂。

昆明种小鼠,体重 18 - 22g,雌雄各半;成

年 Wistar 大鼠若干(制备 S9 用);Ames 鼠伤寒沙门氏试验菌株 TA97、TA98、TA100 均由南京铁道医学院提供。

人外周血采自 20 - 25 岁的健康人。

2 方法

$\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$ 对环磷酰胺(CP)诱导的嗜多染红细胞微核发生率的影响:将小鼠随机分组后以不同剂量受试物连续灌胃 10d,第 9d 和第 10d 分别腹腔注射 CP40mg/ Kg. bw。常规取股骨髓液制片,经 Giemsa 染色。每只动物的制片在油镜下计数 1000 个嗜多染红细胞中的微核数,计算微核发生率(%)。另以 30mg/ Kg. bw 的 CP 进行同步试验。

$\text{Cu}^2(3,5 - \text{dips})_2$ 对诱变剂 4 - 硝基喹啉 - N - 氧化物(NQNO)和 2 - 氨基苄(2 - AF)致突变过程的影响:采用预培养平板掺入

法⁽⁴⁾,诱变剂剂量设定参照《食品安全毒理学评价程序》有关规定进行。

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对丝裂霉素(MMC)诱导的人外周血淋巴细胞姐妹染色单体(SCE)和染色体畸变的影响:按常规方法采人外周血培养,24h后加入BUDR、MMC及不同浓度的 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$,继续培养至70h收获细胞,收获前2h加入秋水仙素(终浓度为0.05ug/ml)。制片、分化染色,每组片在油镜下观察50个分化良好的细胞核,记录SCE次数/细胞。分析100个分散良好的中期相细胞染色体记录染色体畸变的情况。

结 果

1 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对CP所致微核发生过程具有显著的抑制作用并呈现明显的剂量反应关系。

当CP的试验剂量降低时, $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对微核发生的抑制率明显增高。在CP剂量相同的条件下,抑制率随 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 剂量的增加而相应升高。高剂量 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对照组微核发生率与空白对照组的微核自发率差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对CP诱导的小鼠骨髓嗜多染红细胞微核发生过程的影响

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ (mg/kg)	试 验 1			试 验 2		
	CP (mg/kg)	微核发生率 (%)	抑制率 (%)	CP (mg/kg)	微核发生率 (%)	抑制率 (%)
50.0	50	21.0 ±2.2 *	41.4	30	9.5 ±1.8 *	
10.0	50	27.8 ±2.0 * *	21.6	30	8.0 ±1.5 * *	66.8
2.0	50	28.7 ±3.4 * *	18.9	30	12.2 ±1.2 * *	45.1
0.4	50	30.1 ±5.1 * * *	14.9	30	14.6 ±2.6 * *	32.6
0.0	50	35.2 ±2.8		30	20.9 ±2.0	
0.0	0	0.9 ±0.8		0	1.6 ±1.0	
50.0	0	0.5 ±0.6 *				

注: * $P > 0.05$ (与阴性对照组比较); * * $P < 0.05$; * * * $P < 0.001$ 。

2 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对NQNO和2-AF致鼠伤寒沙门氏菌突变过程的影响。

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对NQNO和2-AF诱导TA菌株回变过程的影响程度如表2、表3所示。

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对不加S9活化的诱变剂

NQNO诱导的TA98、对加S9活化的诱变剂2-AF诱导的TA97、TA98、TA100回变过程均呈显著的抑制作用,具有统计学意义。而且呈现明显的剂量反应关系。 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 最高剂量对照组的菌落回变数接近于阴性对照组的自然回变数。

表2 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对NQNO诱导TA98回变过程的影响

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ $\mu\text{g}/\text{皿}$	NQNO(0.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$)		NQNO(1.0 $\mu\text{g}/\text{皿}$)	
	回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
阳性对照	169 ±64		240 ±13	
0.625	138 ±67	21.5 *	209 ±25	14.4
1.25	122 ±8	32.6 *	201 ±40	18.1
2.50	112 ±40	39.6 *	190 ±32	23.3 *
5.00	93 ±36	52.8 *	141 ±27	27.4 *
10.00	45 ±31	86.1 * *	105 ±30	62.8 * *
阴性对照	25 ±6			

注:结果为5次试验的平均值,每次3个平行皿; * $P < 0.05$; ** $P < 0.001$ 。

表3 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对2-AF诱导TA菌株回变过程的影响(+S9)

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ μg/皿	TA97		TA98		TA100	
	回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
0.625	1162 ±248	36.6 *	2804 ±231	30.4 **	1114 ±85	7.8
1.25	971 ±185	49.1 **	2431 ±107	40.4 **	945 ±174	25.1 *
2.5	851 ±98	57.0 **	1849 ±143	56.0 **	807 ±128	39.3 **
5.00	692 ±124	67.5 **	1003 ±89	78.6 **	454 ±69	75.5 **
10.00	304 ±87	92.9 **	656 ±101	87.9 **	325 ±104	88.7 **
0.00	1718 ±302		3943 ±148		1190 ±57	
阴性对照	197 ±18		202 ±21		215 ±13	

注:用双侧 t 检验 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$;表中数据为三次试验平均值,每次3个平行皿。

3 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对MMC诱导人外周血淋巴细胞SCE和染色体畸变过程的影响。

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对MMC诱导人外周血淋巴细胞SCE和染色体畸变过程的影响结果如表4所示。各 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 试验剂量组的

SCE数均显著低于MMC阳性对照组, $P < 0.001$ 。 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 最高剂量对照组的SCE数和阴性对照组自发SCE数相近,差异无显著性。

表4 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对MMC诱导人外周血淋巴细胞SCE^a和染色体畸变^b的影响

$\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ (μg/ml)	MMC (μg/ml)	M期 细胞数	SCE次/细胞 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	畸变 细胞数	抑制率 (%)
25	0.005	50	11.3 ±7.3	93.8 **	6.5	96.2 **
5	0.005	50	29.4 ±8.4	31.6 **	15.0	63.5 **
1	0.005	50	34.2 ±10.2	15.1 **	23.5	30.8 **
0	0.005	50	38.6 ±7.01		31.5	
0	0.005	50	9.5 ±3.6		5.5	
25	0.00	50	8.4 ±4.1 *		4.5	

注: a:用双侧 t 检验, b:用 χ^2 检验, * $P > 0.05$; ** $P < 0.005$ 。结果为3次试验的平均值。

各 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 试验剂量组MMC引发的畸变细胞数均显著降低。镜检发现的细胞染色体畸变类型主要有裂隙、断裂、粉碎、单体互换、内复制等。其中以断裂和裂隙最为多见。 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 高剂量对照组的畸变率和阴性对照组的畸变率接近。

讨论

1 本研究采用的诸项离体试验均为筛选诱变化学物的经典方法,所有阳性对照组和阴性对照组的诱变试验指标之间的差异均具有非常

显著的统计学意义;所有高剂量 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 对照组的诱变指标与阴性对照组比较接近,差异无统计学意义,表明受试物本身无致突变作用; $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 不同试验剂量组的诱变指标(抑制率)大多数与阳性对照组呈现明显的差异,并分别具有不同水平的统计学意义,而且均显示出较为规则的剂量反应关系。随着 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 试验剂量的增加,各项试验结果的抑制率也相应升高。这表明 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 在一定的剂量范围内对生物细胞因受外界化学因素(包括需要和不需要

人参根总皂甙的抗 DNA 损伤与抗突变效应

高铭鑫 隋自洁 杨洪群 王 玮 赵生友

吉林省卫生防疫站 长春 130021

摘要 用 FADU 法⁽¹⁾, Ames 试验及小鼠骨髓细胞 PCE 微核试验检测了人参根总皂甙(GRS)的抗 DNA 损伤与抗突其效应,结果表明 GRS 具有明显的抗 DNA 损伤及抗突变效应。

关键词 人参皂甙;抗 DNA 损伤;抗突变

THE EFFECTS OF GINSENG ROOT SAPONINS ON ANTIF-DNA DAMAGING AND ANTF-MUTATIONS

Gao Minxin, Sui Zijie, Yang Hongqun, Wang Wei, Zhao Shengyou

Health and Anti-epidemic Station of JiLin province, ChangChun 130021

S9 活化后产生作用的化学诱变物)作用引起的突变过程具有明显的抑制作用。

2 业已证实,化学因素诱发肿瘤和放射性因素致病 85%是首先通过作用靶组织细胞使之发生突变而逐步实现的。寻找安全、高效拮抗诱变因素的物质始终是生物医学和预防医学的重要课题。一般情况下,日常生活环境中存在的诱变剂的剂量低于实验剂量,因此,本研究中使用的 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 试验剂量对阳性诱变物诱变过程的拮抗作用为 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 的应用性研究和开发提供了科学依据。

3 生物组织在受到诱变化学物作用后,通过形成过氧化物对细胞产生危害是诱变过程的重要原因之一。几乎所有的生物细胞中都存在一定量含微量元素 Cu 和 Zn 的超氧化物歧化酶(Cu-ZnSOD),可催化过氧化物分解成氧化氢和氧,从而清除过氧化物,对生物体产生保护作用⁽⁵⁾。本研究结果提示 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 的上述抗突变作用也可能与其作为一种模拟超氧化物歧化酶 Cu-SOD 参与并加速过氧化物的降解过程有关。

4 随着世界范围内工业化的高度发展,对人群和生物体具有诱变作用的化学物质层出不穷。本研究结果已经为降低这些化学物对人类和生物体的危害程度提供了实验依据。今后的研究应在此基础上确认 $\text{Cu}^2(3,5\text{-dips})_2$ 的食用及药用安全性后,尽快应用于化妆品、保健食品和药品的开发,发挥其应有的社会和经济效益。

参考文献

1. Kensler TW, Trush MA. Inhibition of oxygen radical metabolism in phorbol ester-activated polymorphonuclear leukocytes by an antitumor promoting copper complex with superoxide dismutase-mimetic activity. *Biochem Pharm*, 1983;32(22):3485
2. John Sorenson RJ. Bis(3,5-diisopropylsalicylato)copper(II), a potent radioprotectant with superoxide dismutase mimetic activity. *J Med Chem*, 1984;27:1747
3. 黄杰,张明,王存德,国产 3,5-二异丙基水杨酸铜的抗放射作用研究. *江苏医药*,1989;15(10):568
4. 黄幸纾,陈星若. 环境化学物致突变致畸致癌试验方法. 第一版. 杭州:浙江科学出版社,1984
5. Kensler TW, Dush DM, W.J. Kozmbo WJ. Inhibition of tumor promotion by a biomimetic superoxide dismutase. *Science*, 1983;221:75