

3-硝基-1, 2, 4-三唑-5-酮的致突变性

Mutagenicity of 3-nitro-1, 2, 4-triazol-5-one

王玉玲, 杜文霞, 孙苑菡, 张延巍, 邢亚飞, 常志强

WANG Yu-ling, DU Wen-xia, SUN Yuan-han, ZHANG Yan-wei, XING Ya-fei, CHANG Zhi-qiang

(中国兵器工业集团第五二一研究所, 陕西 西安 710065)

摘要: 根据《化学品毒性鉴定技术规范》, 采用鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验 (Ames 试验)、小鼠精子畸形试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验, 进行 3-硝基-1, 2, 4-三唑-5-酮 (NTO) 的遗传毒性研究。Ames 试验 NTO 在 8~5 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 未发现诱变作用, 1 250~5 000 mg/kg NTO 对小鼠骨髓嗜多染红细胞无诱发微核作用, 500~2 500 mg/kg NTO 对小鼠精子畸形试验结果为阴性, 提示 NTO 无遗传毒性。

关键词: 3-硝基-1, 2, 4-三唑-5-酮 (NTO); Ames 试验; 微核试验; 精子畸形试验

中图分类号: R114

文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2012)04-0282-02

近年来, 国防科技工业迅速发展, 科研工作者研制出了许多新型高能量密度材料, 3-硝基-1, 2, 4-三唑-5-酮 (NTO) 是其中有代表性的新型含能材料, NTO 是一种能量接近黑索今, 感度相当于 TNT 的高能低感炸药。以 NTO 为原料的含能催化剂已在推进剂中获得应用。经检索, NTO 毒性研究仅有大小鼠经口 $\text{LD}_{50} > 5 000 \text{ mg}/\text{kg}$ 的报道^[1]。针对 NTO 遗传毒性我们进行了鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验 (Ames 试验)、小鼠精子畸形试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 受试物和主要试剂 NTO 纯品, 由中国兵器工业集团公司第二〇四研究所研制提供; 小牛血清, 杭州四季青生物工程材料有限公司; 注射用环磷酰胺, 江苏恒瑞医药股份有限公司。

1.1.2 动物和菌株 实验动物均选用清洁级昆明种小鼠, 由西安交通大学医学实验动物中心提供。Ames 试验标准菌株 (TA97、TA98、TA100 和 TA102) 由河南省疾病预防控制中心引进, 经过阳性对照物测定, 活性良好。

1.2 致突变试验方法^[2]

1.2.1 鼠伤寒沙门氏菌营养缺陷型回复突变试验 (Ames 试验) 将 NTO 设计为 5 000、1 000、200、40、8 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 5 个剂量组。另设自然回变对照组、溶剂对照组 (DMSO) 和阳性对

照组, 用 Ames 试验标准菌株 TA97、TA98、TA100 和 TA102, 在加与不加 S-9 混合液条件下, 分别对 NTO 做平板掺入法试验, 37℃ 培养 48 h 观察结果。各菌株每剂量做 3 个平行皿, 每皿加菌加受试物各 0.1 ml, 整个试验重复 2 次。记录各皿回变菌落数, 如果受试物的回变菌落数是自发回变菌落数的 2 倍以上, 并且有剂量-反应关系定为阳性。

1.2.2 小鼠精子畸形试验 选用体重 18~22 g 健康昆明种小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。设 3 个 NTO 剂量组 (2 500、1 000、500 mg/kg), 同时设阴性对照组 (植物油), 阳性对照组 (CP, 0.2% 环磷酰胺)。染毒组与阴性对照组动物按 0.2 ml/10 g 体重经口灌胃, 连续 5 d, 于首次给受试物后的第 35 天颈椎脱臼法处死动物, 在低倍镜下选择背景清晰、精子分布均匀、重叠较少的区域, 然后在高倍镜下观察结构完整的 1 000 个精子, 计数其中畸形的精子。

1.2.3 小鼠嗜多染红细胞微核试验 选用体重 18~22 g 健康昆明种小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。设 3 个 NTO 剂量组 (5 000、2 500、1 250 mg/kg), 另设阴性对照组 (植物油), 阳性对照组 (CP, 环磷酰胺 30 mg/kg)。阴性对照组和染毒组连续经口灌胃 4 d, 灌胃量按 0.2 ml/10 g 体重计算, 第 5 天颈椎脱臼法处死动物。处死动物前 6 h, 阳性对照组用 CP 30 mg/kg 腹腔注射 1 次, 每只动物检查 2 张涂片, 按常规方法解剖小鼠, 油镜下观察 1 000 个多染红细胞 (PCE) 出现的千分率。

1.2.4 数据统计 所得数据采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 Ames 试验

NTO 每剂量组各菌株回变菌落数均未超过自然回变菌落数的 2 倍, 而阳性对照组超过自然回变菌落数的 2 倍以上, 表明 NTO 在 8~5 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 未发现诱变作用。结果见表 1。

2.2 小鼠精子畸形试验

阳性对照组小鼠精子畸形率明显高于阴性对照组, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 受试物各剂量组小鼠精子畸形率与阴性对照组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。在试验剂量 500~2 500 mg/kg 范围内小鼠精子畸形试验结果为阴性。见表 2。

2.3 小鼠骨髓细胞嗜多染红细胞微核试验

各剂量染毒组与阴性对照组相比, 诱发小鼠的微核率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明在以上剂量的作用下, NTO 对小鼠骨髓嗜多染红细胞无诱发微核作用。见表 3。

收稿日期: 2011-05-10

基金项目: 兵器“十一五”预研支撑项目 (编号: 62301100401)

作者简介: 王玉玲 (1961—), 女, 主管技师, 主要从事卫生毒理和职业卫生研究。

表 1 Ames 试验统计结果 ($\bar{x} \pm s$)

剂量	第一次							
	TA97		TA98		TA100		TA102	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
自然回变	147 ± 11	148 ± 18	38 ± 3	37 ± 7	180 ± 16	187 ± 11	294 ± 15	285 ± 15
NTO 5000 μg/皿组	138 ± 7	149 ± 9	37 ± 3	38 ± 8	190 ± 8	193 ± 7	273 ± 16	280 ± 18
NTO 1000 μg/皿组	147 ± 14	157 ± 8	35 ± 2	36 ± 2	172 ± 10	178 ± 6	271 ± 9	290 ± 9
NTO 200 μg/皿组	149 ± 9	142 ± 6	36 ± 4	35 ± 4	171 ± 9	177 ± 10	275 ± 11	279 ± 14
NTO 40 μg/皿组	142 ± 7	153 ± 9	35 ± 3	38 ± 6	183 ± 10	170 ± 11	284 ± 7	273 ± 8
NTO 8 μg/皿组	136 ± 10	145 ± 6	33 ± 2	33 ± 3	173 ± 7	183 ± 12	274 ± 10	281 ± 11
溶剂对照组	157 ± 12	160 ± 111	39 ± 6	38 ± 3	184 ± 6	183 ± 8	284 ± 11	267 ± 15
阳性对照组	2 522 ± 157	1 769 ± 148	2 228 ± 73	3 145 ± 111	2 299 ± 98	2 646 ± 125	197 ± 1 151	973 ± 77
	(阿的平 10.0 μg/皿)	(2AF 10.0 μg/皿)	(柔毛霉素 6.0 μg/皿)	(2AF 10.0 μg/皿)	(叠氮钠 1.5 μg/皿)	(2AF 10.0 μg/皿)	(丝裂霉素 C 0.5 μg/皿)	(1,8-二羟基蒽 醌 50.0 μg/皿)

剂量	第二次							
	TA97		TA98		TA100		TA102	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
自然回变	153 ± 11	161 ± 14	40 ± 4	41 ± 6	174 ± 12	171 ± 22	292 ± 24	293 ± 16
NTO 5000 μg/皿组	140 ± 7	143 ± 10	38 ± 6	37 ± 3	174 ± 9	183 ± 6	276 ± 7	293 ± 8
NTO 1000 μg/皿组	141 ± 3	137 ± 9	34 ± 3	36 ± 6	173 ± 8	178 ± 18	283 ± 8	283 ± 11
NTO 200 μg/皿组	143 ± 13	149 ± 13	39 ± 4	33 ± 2	163 ± 10	177 ± 8	286 ± 17	273 ± 13
NTO 40 μg/皿组	136 ± 14	132 ± 8	34 ± 5	35 ± 2	168 ± 6	182 ± 9	268 ± 6	279 ± 10
NTO 8 μg/皿组	144 ± 5	140 ± 9	38 ± 6	34 ± 4	174 ± 7	171 ± 11	280 ± 7	281 ± 12
溶剂对照组	147 ± 12	135 ± 11	36 ± 3	35 ± 4	182 ± 10	182 ± 9	287 ± 16	284 ± 12
阳性对照组	2 341 ± 94	1 656 ± 112	2 205 ± 176	3 121 ± 138	2 429 ± 78	2 643 ± 119	2 039 ± 62	961 ± 77
	(阿的平 10.0 μg/皿)	(2AF 10.0 μg/皿)	(柔毛霉素 6.0 μg/皿)	(2AF 10.0 μg/皿)	(叠氮钠 1.5 μg/皿)	(2AF 10.0 μg/皿)	(丝裂霉素 C 0.5 μg/皿)	(1,8-二羟基蒽 醌 50.0 μg/皿)

表 2 NTO 小鼠精子畸形试验结果

组别	动物数 (只)	观察精 子数	畸形精 子(个)	各类精子畸形数(个)					总畸形率 (%)
				无定形	无钩	香蕉形	胖头	其他	
NTO2500 mg/kg 组	5	1000 × 5	120	78	19	22	0	1	2.40 ± 0.37
NTO1000 mg/kg 组	5	1000 × 5	98	53	24	21	0	0	1.96 ± 0.23
NTO500 mg/kg 组	5	1000 × 5	103	57	26	19	1	0	2.06 ± 0.13
阴性对照组	5	1000 × 5	95	59	18	17	1	1	1.96 ± 0.38
阳性对照组	5	1000 × 5	462	305	73	71	8	5	9.24 ± 0.86

表 3 NTO 对小鼠骨髓细胞嗜多染红细胞的微核效应

组别	动物数	观察 PCE 数	微核率	
			微核数	$\bar{x} \pm s$
阴性对照组	10	10 000	11	1.10 ± 0.88
NTO1250 mg/kg 组	10	10 000	22	2.20 ± 1.42
NTO2500 mg/kg 组	10	10 000	23	2.30 ± 2.06
NTO5000 mg/kg 组	10	10 000	23	2.30 ± 0.71
阳性对照组	8	8 000	126	15.75 ± 1.67

3 讨论

微核主要是无着丝点断片或环在细胞分裂时不能定向移

动，因而遗失在细胞质中而产生，也可能是纺锤丝功能或结构障碍，而使整个染色体在细胞分裂末期被排入细胞质而产生。本次微核试验结果为阴性，表明在所选剂量下，NTO 未改变小鼠染色体的完整性。Ames 试验所反映的遗传学终点是 DNA 碱基序列的改变，本次试验结果为阴性，表明在所选择的剂量水平下，NTO 不会引起 DNA 碱基序列的改变。小鼠精子畸形试验结果均为阴性，表明 NTO 对小鼠精子无遗传毒性。参考文献:

[1] London. A toxicological study of 3-nitro-1, 2, 4-triazol-5-one [J]. Los Alamos National Laboratory Report LA-11461-MS. 1988.
[2] 中华人民共和国化学品毒性鉴定技术规范 [S]. 2005 年.