

## 苋菜红小鼠骨髓微核试验

代汉慧<sup>1</sup>, 李晓娟<sup>1</sup>, 彭涛<sup>1</sup>, 陈冬东<sup>1</sup>, 马薇<sup>2</sup>, 唐英章<sup>2</sup>

1 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123

2 黑龙江出入境检验检疫局, 黑龙江 东宁 157200

**摘要** 目的: 用骨髓微核试验观察苋菜红对小鼠的毒性反应, 为进一步致突变研究提供参考。方法: 试验动物随机分 5 组, 分别为阴性对照组, 苋菜红低、中、高 3 个剂量组和阳性对照组。每组 10 只动物, 雌雄各 5 只。连续 ig 给予不同剂量的苋菜红, 观察试验期内小鼠的一般毒性症状、体质量增长情况和骨髓细胞微核率的改变。结果: 实验期间动物的精神、外观均无异常。苋菜红高剂量组动物体质量在给药第 2~3 天下降, 中、低剂量组动物体质量未见异常。苋菜红剂量在 500~2 000 mg/kg 对小鼠骨髓微核率无明显影响。结论: 苋菜红对小鼠骨髓细胞无明显致突变作用。

**关键词** 苋菜红; 致突变; 微核试验; 骨髓细胞; 微核率

中图分类号: TQ617.8 R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 06-0413-03

## Micronucleus test of amaranth red in mice

DAI Han-hui<sup>1</sup>, LI Xiao-jian<sup>1</sup>, PENG Tao<sup>1</sup>, CHEN Dong-dong<sup>1</sup>, MA Wei<sup>2</sup>, TANG Ying-zhang<sup>2</sup>

1 Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China;

2 Heilongjiang Enter-Exit Bureau of Inspection and Quarantine, Dongning 157200, China

**Abstract** **Objective:** Observing toxic reaction and calculating micronucleus rate of mice administrated by different doses of amaranth red to provide a reference for further mutagenesis studies. **Methods:** The experimental animals were randomly divided into five groups such as negative control group, amaranth red low-, middle-, and high-dose groups, and positive control group, respectively. Ten animals were in each group, male and female. By continuous ig administration, the general toxicity, body weight growth, and bone marrow cell micronucleus in mice were observed during the experimental period. **Results:** No abnormal reactions in animal mind and appearance were observed. The growth of body weight in high-dose group decreased in days 2-3 after administration, while the animals in low- and middle-dose groups showed normal body weight. Amaranth red within the dose of 500-2 000 mg/kg did not significantly affect the mouse bone marrow micronucleus rate. **Conclusion:** Amaranth red has no significant mutagenicity on mouse bone marrow cells.

**Key words** amaranth red; mutagenesis; micronucleus test; bone marrow cells; micronucleus rate

苋菜红 (amaranth red), 又名蓝光酸性红, 化学名称为 1-(4'-磺氨基-1-萘偶氮)-2-萘酚-3, 7-二磺酸钠盐, 其化学结构式见图 1。是目前广泛使用

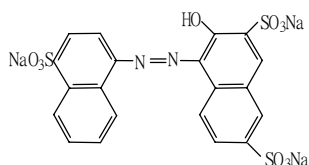


图 1 苋菜红的化学结构式

Fig.1 Structure of amaranth red

的合成染料, 对其使用的争议主要在致突变性和致畸性方面<sup>[1]</sup>。蓄积毒性试验表明, 苋菜红对大鼠无明显蓄积毒性<sup>[2]</sup>。小鼠骨髓微核试验是 ICH 推荐的致突变标准实验, 以小鼠骨髓嗜多染红细胞中微核为评价指标, 具有经济、快速、准确的特点<sup>[3-5]</sup>。微核的形成是细胞受遗传毒物作用后的一种遗传学终点, 以观察细胞中微核的形成来检测遗传毒物, 称为微核试验。微核试验是以动植物为材料, 利用细胞生物学方法观察其出现的微核率 (micronucleus rate) 来表示材料受遗传损伤程度的一种检测遗传

收稿日期: 2010-06-15

基金项目: 中国检验检疫科学研究院基本科研业务费专项资金资助项目 (2008JK001), 国家质量监督检验检疫总局课题 (2009IK310、2008IK133)

作者简介: 代汉慧 (1976—), 女, 硕士, 研究方向: 化学品安全性。E-mail: dhhzys2006@126.com

毒性的方法<sup>[6]</sup>。近年来,随着医药制剂的快速发展,苋菜红作为一种着色剂广泛应用于临床药用胶囊、颗粒和药片的工艺中,为研究苋菜红的致突变作用,保障人体用药安全,本研究观察连续给予苋菜红后小鼠骨髓细胞产生的毒性反应,计算骨髓细胞的微核率,为进一步致突变研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 供试品

苋菜红,紫红色粉末,质量分数>85%,批号:20090120,天津市盛辉化工科技有限公司提供。

### 1.2 实验动物

ICR 小鼠 50 只,SPF 级,体质量 18~20 g,雌雄各半。

## 2 方法<sup>[7]</sup>

### 2.1 动物分组

本试验动物按随机区组方法分 5 组,分别为阴性对照组,苋菜红低、中、高 3 个剂量组和阳性对照组。每组 10 只动物,雌雄各 5 只。

### 2.2 剂量设计

根据中华人民共和国国家标准骨髓细胞微核试验(15193.5-2003),设计苋菜红高剂量 10 g/kg,中剂量 5 g/kg,低剂量 2.5 g/kg;经口 ig 给药。阳性对照环磷酰胺的使用剂量为 40 mg/kg,ip 给药。

### 2.3 给药周期、给药频率与给药体积

苋菜红各剂量组和阴性对照组给药周期为 3 d,每日 1 次,2 次给药间隔时间约 24 h,连续 3 d。阳性对照组为单次给药,给药体积为 10  $\mu$ L/g 体质量。

### 2.4 检测指标

各试验组动物于末次给药后 24 h 左右颈椎脱臼处死,取股骨制作小鼠骨髓涂片标本。骨髓标本无水甲醇固定,吉姆萨染料染色。每只动物观察 1 000 个嗜多染红细胞,并记录所见微核数。

### 2.5 数据处理

各试验组与阴性对照组的动物体质量和微核率进行组间 *t* 检验统计学比较。

## 3 试验结果

### 3.1 一般观察和死亡情况

各组小鼠在给药期间没有出现明显的毒性反应症状。

### 3.2 对小鼠体质量的影响

苋菜红高剂量组动物体质量在给药 2~3 d 下降,与对照组比较统计学差异显著 ( $P<0.05$ )。苋菜红中、低剂量组动物体质量在给药 1~3 d 与对照组比较统计学差异不显著 ( $P>0.05$ )。结果表明,苋菜红在 500~1 000 mg/kg 对小鼠体质量无明显影响(表 1)。

表 1 苋菜红对小鼠体质量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of amaranth red on body weight of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	小鼠体质量/g			
		给药前	给药第 1 天	给药第 2 天	给药第 3 天
对照组	—	19.8±1.2	20.4±0.9	21.0±1.0	21.9±1.1
苋菜红	500	19.8±1.1	20.5±1.3	21.1±1.4	21.5±1.5
	1 000	19.9±1.2	20.4±1.3	20.5±1.2	21.5±1.3
	2 000	19.9±1.2	20.6±1.1	20.0±1.1*	20.3±1.1*

与对照组比\* $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs control group

### 3.3 对小鼠骨髓微核率的影响

苋菜红 500、1 000 和 2 000 mg/kg 剂量组小鼠骨髓平均微核率均在 0.4%水平以下,与溶媒对照组比较统计学差异不显著 ( $P>0.05$ )。阳性对照组小鼠骨髓平均微核率明显高于对照组,统计学差异非常显著 ( $P<0.01$ )。结果(表 2)表明苋菜红剂量达 2 000 mg/kg 时对小鼠骨髓微核率无明显影响。

## 4 结论

在实验期内动物的精神及外观均未出现异常现象。苋菜红 2 000 mg/kg 组动物体质量增长缓慢,1 000 和 500 mg/kg 组动物体质量未见明显异常,说明在小鼠微核试验剂量设计符合国标相关要求<sup>[8]</sup>。苋菜红各剂量组动物小鼠骨髓平均微核率均在 0.4%水平以下,由此可以认为,苋菜红对动物无明显致突变毒性作用。

表2 小鼠骨髓微核试验结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Table 2 Result of mice micronucleus test ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	嗜多染红细胞数	嗜多染红细胞微核率/%
对照	—	1 000	0.17±0.11
苋菜红	500	1 000	0.18±0.09
	1 000	1 000	0.16±0.10
	2 000	1 000	0.25±0.09
环磷酸胺	40	1 000	3.82±1.30**

与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

\*\*  $P < 0.01$  vs control group

## 5 讨论

苋菜红是偶氮磺酸盐型水溶性红色色素,属于偶氮色素,这类物质大多具有一定的致癌、致突变作用。尽管磺化偶氮染料的毒性已经大大降低,但其在生物体内可脱去磺基基团,恢复其毒性。此外,这类化合物在生物体的胃肠道中很容易还原为亚胺类致癌物。据研究,102种偶氮化合物中只有12种不能转化为亚胺化合物,因此,需要应用小鼠骨髓平均微核实验进行体内致突变性评价。目前,我国规定苋菜红可用于碳酸饮料、配制酒、罐头等食品,用量为0.05 g/kg。近年来有研究表明苋菜红能导致雄鼠及孕鼠的结肠细胞DNA损伤<sup>[9]</sup>。由此提示我们,对食用色素等药用辅料也需要采用敏感、高效的实验方法进行深入全面地评价,提高国民用药安全性。

### 参考文献

[1] Collins T F X, Mc Laughlin J, Gray G C. Teratology studies on food colorings: II. Embryo toxicity of R salt

and metabolites of amaranth (FD and C Red No. 2) in rats [J]. *Food Cosmet Toxicol*, 1973, 11(3): 355-360.

[2] 代汉慧, 孔卓涛, 陈冬东. 苋菜红蓄积毒性试验研究[J]. *现代药物与临床*, 2010, 25 (3): 201-203.

[3] 傅 鹏, 张宗鹏. 新药评价中遗传毒性试验方法学研究及其发展趋势[J]. *天津药学*, 2004, 10, 16 (5): 43-46.

[4] 黄芳华. ICH 遗传毒性标准试验组合的最新要求[J]. *药物评价研究*, 2009,32 (1): 10-12.

[5] 黄芳华. ICH 遗传毒性结果评价和追加试验策略指导原则介绍[J]. *药物评价研究*, 2009, 32 (2): 81-83.

[6] 李 宏. 微核实验的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37 (7): 2864-2866.

[7] 李明照, 戴 贲, 张 丽. 微核实验方法的初步探索[J]. *生物学教学*, 2008, 33 (8): 40-41.

[8] 中华人民共和国国家标准. 骨髓细胞微核试验[S]. 2003.

[9] Tsuda S, Murakami M. DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice [J]. *Toxicol Sci*, 2001, 61 (2): 92-99.

## 版权合作声明

中国药学会于2009年与中国学术期刊(光盘版)电子杂志社签订数字出版独家合作协议,在协议期间,中国药学会主办的19本科技期刊(包括天津**中草药**杂志社出版的3本期刊《**中草药**》、《**现代药物与临床**》、《**药物评价研究**》杂志)的网络版由中国学术期刊(光盘版)电子杂志社(其出版和信息服务网站为“中国知网”)独家出版发行,读者可登陆“中国知网”(www.cnki.net)查阅浏览全文。