

重离子辐射对噻乙醇的作用

梁剑平 卫增泉 张 力¹ 周丽霞¹

(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

¹(中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所 兰州 730050)

摘要 研究重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ ($1.656 \times 10^4 \text{ Gy}$)、 $^{16}\text{O}^{8+}$ ($1.585 \times 10^7 \text{ Gy}$) 对噻乙醇的作用。结果表明: 两种重离子辐射后 15% 以上的噻乙醇结构发生了改变, 266nm, 382nm 二处特征吸收峰随其含量的下降而变平, 产生多种辐射产物, 重离子辐射后的噻乙醇抗菌作用明显增强。

关键词 重离子, 噻乙醇, 辐射作用

噻乙醇是当前国内外公认的抗菌促生长的饲料添加剂^[1], 但随着科学技术的进步, 人们发现其毒性较大, 在有些畜牧业和经济发达的国家已经开始限制使用。许多科学家试图通过改变其侧链, 使其成为更有效的添加剂, 但结果是毒性降低, 其效果也下降。本工作应用重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$, $^{16}\text{O}^{8+}$ 对噻乙醇结构进行改造, 获得至少 4 种辐射产物, 并对辐射后的噻乙醇进行紫外、薄层层析 (TLC) 的分析及抗菌活性的研究。结果表明, 重离子辐射后的噻乙醇抗菌作用明显提高。

1 材料与 方法

1.1 材料

噻乙醇粉 (对照品级), 含量 99.6%, 购自中国兽药监察所。精密称取 1.7g, 压成厚 1cm, 密度为 1.28 g/cm^3 药片。菌种: 大肠杆菌 C₈₃₋₁, 鸡白痢杆菌 C₇₉₋₆, 购自中国兽药监察所。绿脓杆菌 C₁₀₁₀₄, 克雷伯₂₁₉, 购自北京生物药品鉴定所。培养基: 杯碟法, 一般用普通琼脂培养基, pH 为 7.2~7.4, 二倍稀释法用一般营养肉汤。

1.2 方法

1.2.1 试验材料 噻乙醇粉, 一份接受电离辐射, 另一份作对照, 然后在相同条件下按中国兽药典 (1990 年版) 噻乙醇项下进行检验。

1.2.2 重离子辐照后噻乙醇抗菌作用的变化 (1) 体外抑菌试验: 用杯碟法比较重离子辐射后的噻乙醇对某些试验菌的作用, 370 °C 培养 18~24h, 观察抑菌情况。二倍稀释法测定重离子辐照前后的最小抑菌浓度 (MIC): 精密称取噻乙醇粉, 无菌操作将其稀释成 $1250 \mu\text{g/ml}$ 的液体; 用试管二倍稀释法。每种试验药物安排 4 组菌液, 即重复 4 次, 实验结果必须一致。每组设 13 支小试管, 各组第一管加相应的稀释菌液 1.8ml。稀释完毕后观察结果, 以完全清晰无菌生长管的浓度为最低抑菌浓度 (MIC)。(2) 体内抗菌试验: 健康小白鼠 100 只, 每只体重 18~22g, 分成 5 组, 每组 20 只, 即健康对照组、感染组、 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射噻乙醇组与 $^{16}\text{O}^{8+}$ 辐射噻乙醇给药组和噻乙醇药物对照组。感染菌用大肠杆菌 C₈₃₋₁ 24h 培养物, 每只小白鼠分别于感染前 1h、感染后 2h、按体重 (100mg/kg) 口服给药, 腹腔注射约 10^8 活菌的胃粘膜素菌液。

甘肃省自然科学基金项目与中国农业科学院科学基金项目

收稿日期: 初稿 1998-05-15, 修回 1998-08-24

1.3 辐射

重离子实验在兰州国家重离子实验室的加速器上进行, 75 MeV/u $^{12}\text{C}^{6+}$ 能量总沉积为 1.656×10^4 Gy; 75MeV/u $^{16}\text{O}^{8+}$ 能量总沉积为 1.585×10^7 Gy 。

1.4 喹乙醇含量检验仪器

HP8452A 型紫外分光光度计。

2 结 果

2.1 重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 、 $^{16}\text{O}^{8+}$ 对喹乙醇的作用

表 1 是重离子 $1.656\times10^4\text{Gy}$ $^{12}\text{C}^{6+}$ 与 $1.585\times10^7\text{Gy}$ $^{16}\text{O}^{8+}$ 对喹乙醇辐射后的含量变化。对照品含量为 99.6%, 而 $^{12}\text{C}^{6+}$ 、 $^{16}\text{O}^{8+}$ 辐射后其含量分别为 83.78%、82.49%。

Tab.1 Irradiation dose and content of olaquinox			
Heavy ion	Irradiation dose/Gy	Identification 1382nm:S382nm	Content/%
$^{12}\text{C}^{6+}$	1.656×10^4	0.8412	83.78
$^{16}\text{O}^{8+}$	1.585×10^7	0.8277	82.49

Tab.2 Appearance of olaquinox and heavy ion irradiated olaquinox	
Drugs	Appearance
Olaquinox	Clear
$^{12}\text{C}^{6+}$ irradiated olaquinox	Sediment
$^{16}\text{O}^{8+}$ irradiated olaquinox	Muddy

S: Sample of olaquinox; I: Irradiated olaquinox

2.2 重离子辐照后引起化学成分及抗菌活性的变化

2.2.1 喹乙醇外观变化 表 2 给出了 75mg 喹乙醇溶解在浓度 70% 乙醇中, 重离子辐射前后外观的差别。

2.2.2 喹乙醇液的紫外吸收光谱

精确称喹乙醇 0.1g, 置 500 mL 棕色量瓶中, 加入 60 mL 二甲替甲酰胺, 摇匀, 再加 50 mL(0.1 mol/L) 盐酸, 振摇, 完全溶解后, 用水稀释至刻度, 摇匀; 精确量取 5mL, 置 100mL 棕色量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 在 $382\pm1\text{nm}$ 的波长处测定吸收度, 同时对照样品按同法操作, 根据对照样品与供试品吸收度的比值, 计算喹乙醇的含量 (P) 。

$$P=\frac{\text{样品吸收度}}{\text{对照样品吸收度}}\cdot\frac{\text{对照品重量}}{\text{样品重量}}\times100\%$$

辐照后的喹乙醇在 266nm、382nm 处的吸收度降低。喹乙醇对照品吸收度 $A_{382}=0.37181$, 而重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射后 $A_{382}=0.31150$ 、 $^{16}\text{O}^{8+}$ 的 $A_{382}=0.30671$, 即其含量降低。

2.3 重离子辐照喹乙醇 TLC 分析

选用 10cm×20cm×0.3cm 玻璃板, 用蒸馏水冲洗干净, 凉干待用。称约 8g GF254 硅胶, 加 2~2.5 倍重的蒸馏水, 顺时针搅成糊状, 制成 3~5mm 厚, 在 110 ℃活化, 放干燥器中 2h 后使用。

$^{12}\text{C}^{6+}$ 重离子辐照喹乙醇后除喹乙醇外, 产生 4 种新化合物; $^{16}\text{O}^{8+}$ 辐照喹乙醇产生 3 种新化合物。展开剂系统为: 乙酸乙酯: 丙酮: 乙醇: 水 =50:40:10:5 或 50:40:10:1, 分离结果理想。

2.4 抑菌实验

2.4.1 体外抑菌实验 表 3~4 是重离子辐照喹乙醇前后抑菌作用的变化, 特别是对大肠杆菌抑菌圈明显增大。

Tab.3 Antibacterial ring diameter of olaquinox and heavy ion irradiated

Organism No. of strains	olaquinox		
	Olaquinox/mm		
	Non irradiated	¹² C ⁶⁺ irradiated	¹⁶ O ⁸⁺ irradiated
Escherich coli	23.50±2.25	25.22±2.10	28.00±2.50
Pseudomoneas			
qeruginosa	18.62±1.95	19.56±1.02	19.82±1.54
Salmonlla	18.21±1.75	19.88±1.10	20.10±1.60
Klebsialla	22.11±1.85	24.90±2.20	26.33±2.08

$\bar{x} \pm s$, $n=8$, $p < 0.05$ vs control

2.4.2 体内抗菌实验 不感染、不给药为健康对照组，与实验组在同一条件下饲养，观察结果全部健活。感染组：用大肠杆菌进行腹腔感染但不给药，一般于 24h 内即明显发病，腹泻沉郁，3 天内全部死亡。给药组：¹²C⁶⁺ 辐照噻乙醇，存活 18 只，精神正常。¹⁶O⁸⁺ 辐照噻乙醇，全部存活，精神正常。对照组：与以上相同剂量噻乙醇，存活 15 只，精神正常。卡方检验表明，体外抑菌与体内抗菌结果一致。

3 讨 论

杯碟法与二倍稀释法体外抑菌实验结果表明，两种方法所得结果基本一致。噻乙醇对大肠杆菌抑菌圈直径为 23.5nm,MIC 为 156μg/mL 属中度敏感，而碳、氧离子辐照后抑菌圈直径分别为 25.22 、 28.00mm,MIC 为 9.75 、 4.88μg/mL 属高度敏感。用大肠杆菌 C₈₃₋₁ 强毒给小鼠人工造病，再用辐照前后的噻乙醇进行保护实验，结果表明，同样剂量噻乙醇的保护率为 75%，而碳离子辐照后的噻乙醇保护率为 90%，氧离子辐照后的噻乙醇保护率为 100%。

噻乙醇在重离子 ¹⁶O⁸⁺ 辐照下产生多种产物，对此进行了薄层扫描，并将分离得到的 3 种单体进行了红外、核磁、质谱分析，因其化学结构与原结构变化不大且数量太微，未能准确鉴定化学结构。但其辐照产物具有很强的抗菌活性，值得进一步研究。

噻乙醇在光激发下可发生脱氧、重排、环扩大和环缩小等反应 [3]，笔者曾利用 ESR 研究噻乙醇光解过程中生成的自由基中间体，结果表明，光照前，除氧的 CHCl₃ 体系呈微弱的 ESR 信号；光照 1min 后，ESR 强度激增，光照停止，ESR 信号又迅速减弱。在光照下，可能发生由 $-O-N^+=\overset{\curvearrowright}{C}-\overset{\curvearrowright}{C}=N^+-O^-$ 体系的电子转移引起双键转移，形成氮氧双自由基，通过氧氮丙环烷中间体，继而进行重排和环扩大。因此认为碳、氧离子辐照噻乙醇也发生类似的光反应，而且重离子辐照能量一定，其生成的产物较光反应单一且更有意义。

参 考 文 献

1 张逸庆, 张亚军, 陈列康等. 中国医药工业杂志, 1989, 20(3):857~861
2 中国兽药典. 噻乙醇, 1990:243~244

Tab.4 MIC of olaquinox and heavy ions irradiated olaquinox

Organism No. of strains	Olaquinox/μg ml ⁻¹		
	Non irradiated	¹² C ⁶⁺ irradiated	¹⁶ O ⁸⁺ irradiated
Escherich coli	156	9.75	4.88
Pseudomoneas			
qeruginosa	312.5	78.1	39.0
Salmonlla	1250	312.5	156
Klebsialla	39.0	19.5	9.75

One parallel control was run with each set of four
exprimental groups and comparaed with the result

- 3 Kawata H, Kikuchi K, Kokubun H. J Photochem, 1983, 21:343~352
- 4 Shibamoto Y, Streffer C, Fuhrmann C *et al.* Radiat Res, 1991, 128:239~245
- 5 董 波, 叶启薇, 曾振灵. 中国兽医科技, 1991, 21(10):33~35

EFFECT OF HEAVY ION IRRADIATION ON OLAQUINDOX

LIANG Jianping WEI Zengquan⁽¹⁾ ZHANG Li ZHOU Lixia

(*Institute of Animal and Veterinary Medicine, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730050*)

⁽¹⁾(*Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000*)

ABSTRACT The effect of heavy ion $^{12}\text{C}^{6+}$ (1.656×10^4 Gy) and $^{16}\text{O}^{8+}$ (1.585×10^7 Gy) irradiation on olaquinox has been investigated. The result indicated that after $^{12}\text{C}^{6+}$, $^{16}\text{O}^{8+}$ irradiation and structure of more than 15% olaquinox was changed. The characteristic absorption peaks at 266nm, 382nm became flatter and lower, indicating decrease of olaquinox content, however its antibacteria effect was enhanced apparently. In addition several irradiation products was yielded.

KEYWORDS Heavy ion, Olaquinox, Irradiation effect