

## 抗疟药咯萘啶在鼠伤寒沙门氏菌/微粒体系统中的诱变性

倪奕昌 徐月琴 邵葆若 (中国医学科学院寄生虫病研究所, 上海 200025)

**提要** 本文研究新抗疟药咯萘啶的诱变性。以鼠伤寒沙门氏菌的5株组氨酸缺陷型菌株(TA100, TA98, TA1535, TA1537及TA1538)在加或不加S-9的条件下用平皿掺入法检测药物对各菌株的诱变性。S-9从多氯联苯诱导的大鼠肝脏制取。以两种已知有诱变性的抗寄生虫药物海葱酮和吡喃丙胺作对照化合物。结果表明: 咯萘啶100-1000  $\mu\text{g}/\text{皿}$ 不加S-9即可诱发TA1537回复突变; 在该剂量范围内每皿回变

菌落数呈剂量相关性增加。该药对其余4个菌株无诱变性。

**关键词** 抗疟药; 咯萘啶; 诱变性; 鼠伤寒沙门氏菌/微粒体系统; 组氨酸缺陷型菌株; 移码突变

1981年3月11日收稿 1981年7月15日修回

\* 本项研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的支持。

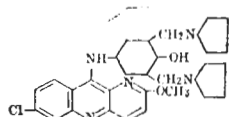


Fig 1. pyronaridine

咯萘啶(7351)是我国创制的新型杀裂殖子抗疟药。动物实验和临床使用证明对间日疟和恶性疟均有效,并且作用迅速、毒性低、与氯喹无交叉抗药性<sup>(1)</sup>。近来,研究发现常用抗疟药氯喹 100-250  $\mu\text{g}/\text{ml}$  可在细菌诱变试验中诱发鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型 TA1537 菌株回复突变<sup>(2)</sup>。为此,我们用 Ames 氏的鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 的 5 种组氨酸缺陷型突变菌株 TA100, TA98, TA1535, TA1537 和 TA1538 结合哺乳动物肝微粒体酶系(S-9)激活诱变剂(致癌剂)的检测系统研究咯萘啶的诱变性<sup>(3,4)</sup>。本品化学名为 2-甲氧基-7-氯-10-[(3',5'-双四氢吡咯次甲基-4'-苄基)氨基]苯并 [b]1,5-萘啶,结构式如图 1,其磷酸盐为黄色结晶,易溶于水,实验中溶于无菌重蒸馏水,按基质量给药。该药品由本所药物化学研究室合成。

## 材 料 和 方 法

1. 测试用菌株 鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型的 5 个菌株 TA100, TA98, TA1537, TA1535 和 TA1538 引自复旦遗传研究所,并按 Ames 法<sup>(4)</sup>对各菌株的基因型作重复

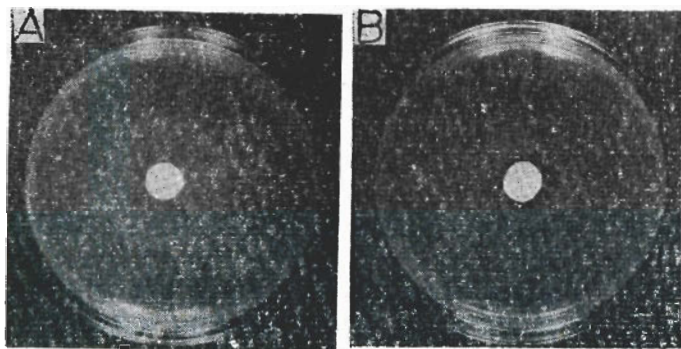


Fig 2. Positive controls using paper disk. A) His<sup>+</sup> revertants of TA 100 induced by NTG; B) His<sup>+</sup> revertants of TA 1537 induced by 9-AA.

鉴定。其中 TA100 和 TA1535 用于检测硷基置换突变的诱变剂; TA98, TA1537 和 TA1538 则可检出移码突变的诱变剂,除组氨酸缺陷型突变外,这些菌株还都具有切除修复系统的缺失突变 (*uvr B*) 和脂多糖屏障丢失突变 (*rfa*)。TA100 和 TA98 是分别在 TA1535 和 TA1538 菌株中引入了一个抗氨苄青霉素 (*ampicillin*) 的质粒-R 因子而建立的新菌株,它们对某些弱致癌物更为敏感。

2. 培养基和 S-9 的制备及诱变性测试方法 各种培养基的成份和配制、S-9 的诱导和制备以及诱变性试验的方法均采用 Ames 等的方法<sup>(4,5)</sup>。

3. 诱变试验的阳性指示物 选用已经确定不需要代谢激活的诱变剂或致癌物 *N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍 (NTG 或 MNNG), 9-氨基吡啶 (9-AA) 等和需要代谢激活的致癌物黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (aflatoxin B<sub>1</sub>) 等作为阳性反应指示物,用以鉴定实验结果的可靠性。并用已知诱变阳性的抗寄生虫药呋喃丙胺 (*furapromide*)<sup>(6)</sup> 和海葱酮 (*hycanthone*)<sup>(7)</sup> 作对照化合物。

## 结 果

1. 阳性化合物的测试结果 对已确定不需要代谢激活的诱变剂或致癌物 NTG 和 9-AA 等采用纸片点样法作定性测试,可见在点样纸片周围长出一圈密集的回变菌落 (图 2)。此外,对需要代谢激活的致癌物黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 以及已知诱变阳性的呋喃丙胺和海葱酮等对照药物,用平皿掺入法查点培养基上长出的回变菌落数。结果表明,在一定的剂量范围内,回变菌落数均比自发回变菌落数增加 1 倍以上,呈阳性反应 (表 1)。

2. 咯萘啶的测试结果 用平皿掺入法定量测定咯萘啶对上述 5 个菌株的诱变性。检测浓度从 1  $\mu\text{g}/\text{皿}$  起按 10 倍递增,直到抑菌浓度为止。每个浓度在

Table 1. Mutagenic activity of positive controls in TA 100 and TA98 of *Salmonella typhimurium*

Strain	Compound	S-9 mix (ml/plate)	Dosage ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	His <sup>+</sup> revertants/plate ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )
TA 100	Control (Spontaneous reversion)	0		184 $\pm$ 7
		0.1		260 $\pm$ 21
	Aflatoxin B <sub>1</sub>	0.1	0.25	>2000
	Furapromide	0	1	930 $\pm$ 99
TA 98	Control (Spontaneous reversion)	0		42 $\pm$ 12
	Hycanthone	0	50	484 $\pm$ 44

Table 2. His<sup>+</sup> revertants/plate induced by pyronaridine in the 5 strains of *Salmonella typhimurium* ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )

Strain	S-9 mix (ml/plate)	Doses of pyronaridine ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )					
		0	1	10	100	1000	
TA 100	0	132 $\pm$ 12	140 $\pm$ 26	150 $\pm$ 22	108 $\pm$ 10		Bacteriostasis
	0.2	168 $\pm$ 21	170 $\pm$ 21	153 $\pm$ 26	196 $\pm$ 42		Bacteriostasis
TA 98	0	28 $\pm$ 2	21 $\pm$ 7	24 $\pm$ 3	24 $\pm$ 6		6 $\pm$ 6*
	0.2	30 $\pm$ 6	28 $\pm$ 8	20 $\pm$ 4	27 $\pm$ 10		12 $\pm$ 1*
TA 1535	0	15 $\pm$ 2	15 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	15 $\pm$ 2		Bacteriostasis
	0.2	24 $\pm$ 0	22 $\pm$ 7	22 $\pm$ 2	28 $\pm$ 2		Bacteriostasis
TA 1538	0	10 $\pm$ 7	10 $\pm$ 1	7 $\pm$ 2	9 $\pm$ 2		Bacteriostasis
	0.2	11 $\pm$ 3	8 $\pm$ 3	7 $\pm$ 1	18 $\pm$ 5		Bacteriostasis
TA 1537	0	9 $\pm$ 1	11 $\pm$ 4	16 $\pm$ 3	31 $\pm$ 3		>1000
	0.2	13 $\pm$ 2	7 $\pm$ 0	14 $\pm$ 3	28 $\pm$ 7		>1000

\* Bacteriostasis at 2000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 

加或不加 S-9 的条件下各作 3 个平皿, 计算其回变菌落数的平均数, 每个菌株重复测试 2—3 次。结果表明该药对 TA100, TA98, TA1535 以及 TA1538 均无诱变性; 但对 TA1537 在每皿含药 100—1000  $\mu\text{g}$  时可呈现诱变作用, 此种诱变作用不需 S-9 的代谢激活(表 2)。当咯萘啶浓度由 100  $\mu\text{g}/\text{皿}$  递增时, 药物诱发的每皿回变菌落数呈剂量相关性升高, 可得到一条剂量-效应曲线(图 3)。

## 讨 论

Ames 等报道在 TA 1537 菌株 DNA 上的

组氨酸操纵子前方有一系列重复的胞嘧啶碱基(C), 该部位在 DNA 复制时易引起 +1 的移码突变。因此, TA 1537 易于被 9-AA 等致癌物引发回复突变, 可用来检测化合物中的移码突变诱变剂<sup>(4,8)</sup>。根据本研究结果, 抗疟新药咯萘啶和常用抗疟药氯喹相似, 也是一种能引起 TA 1537 发生移码突变的诱变剂。

研究证明氯喹能以其喹啉环插入 DNA 单链上的相邻碱基之间而与 DNA 分子形成一种复合物<sup>(9)</sup>, 从而在 DNA 复制时导致碱基的插入或缺失, 使遗传密码移位而引发移码突变。另一抗疟药阿的平(mepacrine)在体外也可与

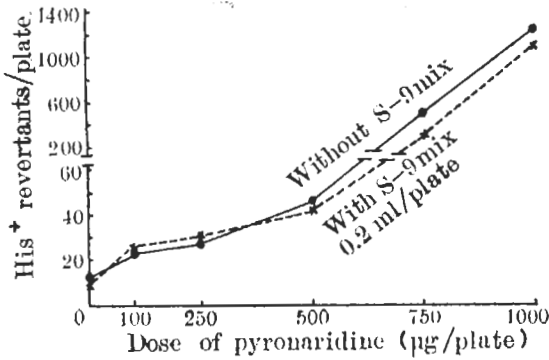


Fig 3. Dose-response curves of mutagenicity of pyronaridine in TA 1537

DNA 形成插入性复合物<sup>(10)</sup>。从化学结构上看,阿的平是 TA 1537 菌株的阳性诱变化合物, 9-AA 的衍生物; 并与氯喹相似也具有喹啉环的基本结构, 可视为喹啉并甲氧基苯环的衍生物。而咯萘啶的母核虽为萘啶环, 但其基本结构中亦有喹啉环部分, 除了 9 位氨基上支链不同外, 可视为喹啉并甲氧基吡啶的衍生物。因此, 这几个抗疟药在结构上的类同点是否与它们的诱变性能或插入 DNA 的能力有某种构效关系, 值得进一步深入研究。过去, 药物学家以化合物插入疟原虫 DNA 的作用作为寻找新抗疟药的线索之一, 现在似有必要结合遗传毒理学的知识来探讨这种线索的安全性。

化学物的致癌作用具有生物物种特异性<sup>(11)</sup>。且细菌的 DNA 携带的遗传密码仅为哺乳动物的 6%; 而哺乳动物的机体免疫功能在细菌中完全不具备。加之, 鼠伤寒沙门氏菌检

测系统虽然准确程度较高, 但仍有 10% 的不相符率。所以本实验结果固然可为咯萘啶的药理、毒理和临床研究提供参考依据, 但为了进一步评价该药的诱变性, 尚需配合其它检测系统鉴定与印证。较为重要的是, 应深入了解该药对哺乳动物细胞及它在动物体内代谢物的诱变性能, 并与常用抗疟药氯喹进行比较, 以得出较全面的结论。

致谢 复旦大学遗传研究所赵寿元和李昌本同志赠送菌种并指导。

### 参 考 文 献

- 1 原疟疾研究室新药组, 中国医学科学院寄生虫病研究所. 药学学报 1980 年 10 月; 15(10): 630
- 2 Martin E. *Mutat Res* 1979 Sep; 68(1): 41
- 3 赵寿元、李昌本、薛京伦. 实验生物学报 1979 年 3 月; 12(1): 41
- 4 Ames BN, McCann J, Yamasaki E. *Mutat Res* 1975 Dec; 31 (6): 347
- 5 Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973 Aug; 70(8): 2281
- 6 Ong TM, Callen DF, Huang SL, Batzinger RP, Bueding E. *Mutat Res* 1977 Jan; 48(1): 37
- 7 Hartman PE, Levine K, Hartman Z, Berger H. *Science* 1971 Jun 4; 172(3987): 1058
- 8 Ames BN, Lee FD, Durston WE. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973 Mar; 70(3): 782
- 9 O'Brien RL, Allison JL, Hahn FE. *Biochim Biophys Acta* 1966 Dec 21; 129 (3): 622
- 10 Lerman LS. *Proc Natl Acad Sci USA* 1963 Jan; 49(1): 94
- 11 Ashby J, Styles JA. *Nature* 1978 Feb 2; 271 (5644): 452

*Acta Pharmacologica Sinica* 1982 Mar; 3 (1): 51—55

## MUTAGENICITY OF A NEW ANTIMALARIAL DRUG, PYRONARIDINE, IN THE *SALMONELLA*/MICROSOME SYSTEM

NI Yi-chang, XU Yue-qin, SHAO Bao-ruo

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences, Shanghai 20025)

**ABSTRACT** The mutagenic activity of a new antimalarial drug, pyronaridine, was

studied on 5 histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium* (TA100, TA98,

TA1535, TA1537 and TA1538) with and without S-9, using the plate test.

After the rats had been induced by PCB, S-9 were isolated from the livers. Two antiparasitic drugs with known mutagenicity, hycanthone and furapromide, were used as positive controls.

In strain TA 1537, pyronaridine induced mutations without S-9 at the doses of 100-1000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ . The His<sup>+</sup> revertants per plate increased dose-dependently.

Pyronaridine did not induce mutations of other 4 strains.

**KEY WORDS** antimalarial drug; pyronaridine; mutagenicity; *Salmonella*/microsome system; histidine-requiring strains; flameshift mutation

---

This investigation received support from the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.

\* \* \*

\* \* \*