

呋喃嘧酮的诱变性和致畸胎性

倪奕昌 邵葆若 湛崇清 徐月琴 哈淑华 焦佩英

(中国医学科学院寄生虫病研究所, 上海 200025)

提要 诱变试验的测试菌株为鼠伤寒沙门氏菌的5个组氨酸缺陷型突变株。在加或不加肝微粒体酶的条件下定量检测药物0.01-10 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 对菌株的诱变性。呋喃嘧酮在0.1和1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 时分别对TA 100和TA 98呈明显的诱变性。致畸试验中以该药140, 210或280 $\text{mg}/\text{kg}/\text{d}$ 于大鼠妊娠d 7-11每d ig一次。呋喃嘧酮210 $\text{mg}/\text{kg}/\text{d}$ 对大鼠引起死胎和胎鼠胸骨骨化不全。

关键词 抗丝虫药; 呋喃嘧酮; 海群生; 鼠伤寒沙门氏菌/微粒体系统; 致畸胎性; 诱变性

呋喃嘧酮(furapyrimidone)是我所筛选出的抗丝虫新药, 临床试验表明它对班氏和马来丝虫成虫与微丝蚴均有杀虫作用。实验治疗中其杀棉鼠丝虫作用优于海群生和左旋咪唑。海群生对微丝蚴杀灭作用虽强, 但对成虫作用弱,

1982年4月26日收稿 1982年10月25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

而呋喃嘧酮则有一定的杀成虫作用。小鼠和犬的急性毒性试验以及服药动物的组织病理学研究证明该化合物不引起重要器官组织损害⁽¹⁾。为了解其遗传毒理学, 乃采用标准的Ames平皿掺入试验, 同时观察了呋喃嘧酮和海群生在鼠伤寒沙门氏菌/微粒体系统中的诱变性, 并在大鼠中观察了两药的致畸胎性。

材 料 和 方 法

药物 呋喃嘧酮由上海医药工业研究院合成并供给。诱变试验中将其溶于二甲亚砜配成各种待测最终浓度; 致畸胎试验中则以1%西黄蓍胶液配成混悬液ig。

海群生(diethylcarbarnazine)系南京制药厂出品, 致畸试验中亦以1%西黄蓍胶液配成悬液ig。

阳性对照化合物 诱变试验选用已知诱变

Tab 1. Dose groups in teratogenicity assay (The clinical dosage is 20 mg/kg/d × 5 for furaprimidone and 12 mg/kg/d × 5 for diethylcarbamazine).

Drug	Rats	Doses (mg/kg/d)	Test dose/ Clinical dose (single or total)
Furaprimidone	13	140	7.0
	15	210	10.5
	19	280	14.0
Diethyl-carbamazine	16	84	7.0
	14	126	10.5
	15	168	14.0

阳性的抗血吸虫药海葱酮(hycanthone)与呋喃丙胺(furapromide)作对照化合物;并以需要代谢活化的致癌物黄曲霉素B₁鉴定代谢活化系统——大鼠肝微粒体酶(S-9)的有效性。

致畸胎试验选用已知致畸原敌枯双(dexon)为阳性对照。该药由上海市职业病防治研究所提供,配制方法同上。

菌株 鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)组氨酸缺陷型的5个突变菌株 TA 100, TA 98, TA 1535, TA 1537 和 TA 1538 均引自 Ames 实验室,并鉴定了它们的遗传特性和自发回变数⁽²⁾。鉴定结果表明各菌株均符合实验要求。其中 TA 100 和 TA 1535 用来检测诱发碱基置换突变的诱变剂,而 TA 98, TA 1537 和 TA 1538 则可检出移码突变诱变原。

动物 本所动物房繁殖的♀成年大白鼠。

方法

1. 诱变试验 各种培养基的成分和配制,大鼠肝微粒体酶(S-9)的诱导、制备和鉴定以及平皿掺入法的操作均按 Ames 法⁽²⁾。

2. 致畸胎试验 呋喃啉酮与海群生各设3个剂量组,另设空白对照组和敌枯双阳性对照组(5 mg/kg/d)。各试验组的剂量与临床剂量的关系如表1。各组孕鼠均于妊娠d7开始ig, qd × 5 d, 孕鼠每3d称重,按体重变化调整给药量。于d20以颈椎脱臼法处死,记录活胎数、死胎数、着床数、早期吸收胎数、成熟

胎仔外形、窝重。部分胎鼠经 Bouin's 液固定后作徒手切片检查内脏畸形,另一部分胎鼠经95%乙醇固定,茜素红S染色和甘油透明后检查骨骼畸形。

结 果

诱变试验 药物剂量分别从 0.01 μg/plate (每皿直径约 9.5 cm) 或 1 μg/plate 起 10 倍递增,直至抑菌浓度或 1000 μg/plate 为止。每一剂量测试 3 皿,计算其回变菌落数的 $\bar{x} \pm SD$ 。该 \bar{x} 大于自发回变数 2 倍以上者为阳性。每个菌株重复测试 2-3 次。结果表明,呋喃啉酮对 TA 1535, TA 1537 和 TA 1538 均无诱变性;但对 TA 100 和 TA 98 在剂量分别为 0.1 和 1 μg/plate 时即表现出明显的诱变性(表2)。海群生 1000 μg/plate 对上述 5 个菌株均无诱变性(表3)。在相同实验条件下,各阳性对照化合物在加或不加 S-9 混合液时均可得回变阳性的结果(表4)。

Tab 2. His⁺ revertants/plate induced by furaprimidone in 5 strains of salmonella typhimurium ($\bar{x} \pm SD$)

Strain	S-9 mix (ml/plate)	Doses of furaprimidone (μg/plate)*			
		0	0.01	0.1	1
TA 100	0	90 ± 11	—	244 ± 42	1627 ± 93
	0.2	96 ± 29	—	325 ± 45	1903 ± 53
TA 98	0	37 ± 4	32 ± 5	36 ± 6	94 ± 10
	0.2	30 ± 8	33 ± 2	34 ± 5	90 ± 15
TA 1535	0	22 ± 1	24 ± 4	22 ± 1	23 ± 3
	0.2	22 ± 4	28 ± 11	26 ± 5	22 ± 8
TA 1537	0	11 ± 3	6 ± 1	9 ± 3	8 ± 1
	0.2	9 ± 3	6 ± 2	7 ± 3	10 ± 1
TA 1538	0	12 ± 1	12 ± 4	17 ± 1	16 ± 3
	0.2	11 ± 3	7 ± 4	15 ± 7	17 ± 4

* Bacteriostasis at 10 μg/plate.

致畸胎试验

1. 药物对孕鼠体重的影响 ig 呋喃啉酮或海群生的孕鼠 20 d 体重的增长与对照组相比无显著差异(表5)。

2. 药物对胚胎生存率的影响 阳性对照敌枯双组的活胎率与对照组相比显著下降(P < 0.01),但呋喃啉酮或海群生各组的活胎率与对照组比较无显著差异。各给药组胚胎早

Tab 3. His⁺ revertants/plate induced by diethylcarbamazine in the 5 strains of *Salmonella typhimurium* ($\bar{x} \pm SD$)

Strain	S-9 mix (ml/plate)	Doses of diethylcarbamazine ($\mu\text{g}/\text{plate}$)				
		0	1	10	100	1000
TA 100	0	141 ± 4	134 ± 7	146 ± 22	135 ± 14	118 ± 19
	0.2	161 ± 9	178 ± 14	139 ± 28	170 ± 30	170 ± 21
TA 98	0	30 ± 3	34 ± 8	28 ± 3	30 ± 6	28 ± 4
	0.2	35 ± 6	35 ± 8	31 ± 5	33 ± 5	34 ± 5
TA 1535	0	16 ± 3	18 ± 6	15 ± 3	19 ± 2	18 ± 4
	0.2	19 ± 4	17 ± 1	22 ± 5	11 ± 2	18 ± 4
TA 1537	0	7 ± 2	8 ± 2	7 ± 2	5 ± 2	3 ± 2
	0.2	12 ± 2	12 ± 2	12 ± 4	10 ± 1	6 ± 2
TA 1538	0	9 ± 1	12 ± 5	5 ± 4	7 ± 5	10 ± 3
	0.2	7 ± 2	7 ± 5	5 ± 3	10 ± 3	12 ± 3

Tab 4. His⁺ revertants/plate induced by positive controls in TA 100 and TA 98 of *Salmonella typhimurium* ($\bar{x} \pm SD$)

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

Tab 5. Effects of furapyrimidone and diethylcarbamazine on dam's weight and fetus living rate

Drug	Daily dose (mg/kg)	Rats	Dam's weight increase			Number of implantations	Rate of living fetus (%)	Rate of fetal resorp- tion(%)	Rate of dead fetus (%)
			D ₀	D ₂₀	(D ₂₀ -D ₀)				
Control	0	22	234 ± 20	338 ± 42	104 ± 32	165	82.4	9.7	7.9
	280	19	231 ± 31	350 ± 58	119 ± 41	135*	84.5*	5.9*	9.6*
Furapyri- midone	210	15	249 ± 42	351 ± 64	102 ± 39	152*	73.7*	7.2*	19.1***
	140	13	257 ± 63	354 ± 91	97 ± 38	103*	84.5*	5.8*	9.7*
Diethyl- carbamazine	168	15	232 ± 34	328 ± 70	96 ± 42	142*	77.5*	4.9*	17.6***
	126	14	242 ± 30	339 ± 73	97 ± 50	113*	69.0*	2.7*	28.3***
Dexon	84	16	259 ± 39	364 ± 52	105 ± 22	124*	92.8*	4.0*	3.2*
	5	10	235 ± 29	332 ± 61	97 ± 38	100*	42.0***	17.0*	41.0***

* $P > 0.05$ *** $P < 0.01$ $\bar{x} \pm SD$ (In comparison with the controls)

期吸收率无显著改变。但呋喃嘧啶 210 mg/kg 组、海群生 168 mg/kg 组与 126 mg/kg 组以及敌枯双组的死胎率均显著高于对照组 ($P < 0.01$) 呋喃嘧啶 210 mg/kg 组和海群生 168 mg/kg 组的死胎率又显著低于敌枯双组 ($P < 0.01$)；但呋喃嘧啶 210 mg/kg 组与海群生 168 mg/kg

组、126 mg/kg 组之间，其死胎率无显著差异 (表 5)。

3. 药物对胎鼠发育的影响 各给药组胎鼠平均体重略低于对照组，但不显著 ($p > 0.05$)。各药对胎鼠骨骼发育的影响主要表现为枕骨骨化迟缓、胸骨缺失与骨化不全以及肋骨畸形。

Tab 6. Effects of furapyrimidone and diethylcarbamazine on development of fetal skeleton

Drug	Daily doses (mg/kg)	Number of fetuses	Fetal weight (g) $\bar{x} \pm SD$	Number of fetuses examined	Rate of delayed ossification of occipital bone (%)	Rate of incomplete ossification of sternum (%)	Rate of dysmorphosis of ribs (%)	Total rate of involved skeleton in fetus (%)
Furapyrimidone	280	114	3.8±0.3	65	0	29.3**	0	29.3*
	210	112	3.5±0.7	65	6.2*	27.7**	1.5*	35.4*
	140	87	3.7±0.6	50	0	18.0*	0	18.0*
Diethylcarbamazine	168	110	3.8±0.6	65	0	6.2*	1.5*	7.7*
	126	78	3.9±0.8	46	0	6.5*	0	6.5*
	84	115	3.8±0.6	68	3.0*	19.1*	0	22.1*
Dexon	5	42	3.4±0.6	25	24.0*	28.0**	24.0***	76.0***
Control	0	136	3.9±0.8	78	10.3	12.8	2.6	25.7

In comparison with the controls, * $P > 0.05$; ** $P < 0.05$; *** $P < 0.01$

各试验组中呋喃嘧酮 280 mg/kg 组与 210 mg/kg 组引起的胎鼠胸骨骨化不全率显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其余各组对胸骨、枕骨、肋骨发育的影响与对照组无显著差异。阳性对照敌枯双则可引起胎鼠胸骨、肋骨发育的显著迟缓和改变。若以胎鼠骨骼发育总累及率为指标, 则呋喃嘧酮和海群生各给药组与对照组比较无显著差异, 但敌枯双组与对照组相比则差异非常显著。此外, 以胸骨骨化不全率或骨骼发育总累及率为指标, 呋喃嘧酮的高、中剂量组与海群生相应的高、中剂量组相比亦有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。(表 6)。

在本实验中各给药组均未查见胎鼠内脏或外观畸形。

讨 论

呋喃嘧酮不论加或不加 S-9 对 TA 100 与 TA 98 均有诱变作用, 因此它是一种既能诱发碱基置换突变, 又能诱发移码突变的诱变剂; 而常用抗丝虫药海群生在本实验系统中无诱变性。呋喃嘧酮在人的白细胞体外测试系统——SCE 中可引起姐妹染色单体交换频率显著升高, 这表明它在体外对人的细胞也有诱变性⁽³⁾。可见呋喃嘧酮对细胞遗传物质的影响不仅限于

基因水平, 而且还作用于染色体水平。210 mg/kg/d 的呋喃嘧酮即有一定的胚胎毒性, 死胎率和胎鼠胸骨骨化不全率高于对照组的。与抗丝虫药海群生相比, 两者引起的死胎率无显著差异, 但呋喃嘧酮大、中剂量组的胎鼠胸骨骨化不全率显著高于海群生相应的大、中剂量组。

国际上已对六十多种硝基呋喃类化合物作过诱变性测定, 其中大多数在 Ames 试验中呈阳性⁽⁴⁾。其发生机理和生物学意义以及对它们的潜在致癌危险性的估价目前尚无定论^(5,6)。但普遍认为应该重视对于这类化合物的遗传毒理学研究, 并通过改变化学结构去寻找高效而无诱变性的新化合物。

参 考 文 献

- 1 席裕瑞、杨元清、杨惠中、徐裕信、郭惠芳、聂晋华、刘和香。中国药理学报 1980 年 9 月; 1(1): 56
- 2 Ames BN, McCann J, Yamasaki E. *Mutat Res* 1975 Dec; 31(6): 347
- 3 赵寿元、李昌本、马正蓉、丁斐。实验生物学报 1981 年 6 月; 14(2): 123
- 4 Goodman DR, Hakkinen PJ, Nemenzo JH, Vore M. *Mutat Res* 1977 Jul; 48(3): 295
- 5 Blumer JL, Friedman A, Meyer LW, Fairchild E, Webster JL, Speck WT. *Cancer Res* 1980 Dec; 40(12): 4599
- 6 Tazima YTK, Murakami A. *Mutat Res* 1975 Mar; 32(1): 55

MUTAGENICITY AND TERATOGENICITY OF FURAPYRIMIDONE

NI Yi-chang, SHAO Bao-ruo, ZHAN Chong-qing, XU Yue-qin, HA Shu-hua, JIAO Pei-ying

(*Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences, Shanghai 200025*)

ABSTRACT Furapyrimidone, a new effective antifilarial agent, was studied in *Salmonella*/microsome system for mutagenicity and in rats for teratogenicity. The mutagenic effect was quantitatively assayed on 5 histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium*, with and without activation by rat liver microsomes. The concentrations tested were 0.01-10 $\mu\text{g}/\text{plate}$. In teratogenicity assay, the drug was given po 140, 210, 280 mg/kg, qd \times 5 d beginning on d 7 of gestation. The results showed that furapyrimidone exhibited a potent mutagenic

effect on TA 100 and TA 98 at 0.1 and 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$, respectively. The drug increased the number of dead fetuses and the rate of incomplete ossification of fetal sternum.

KEY WORDS antifilarial agents; furapyrimidone; diethylcarbamazine; *Salmonella*/microsome system; teratogenicity; mutagenicity

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