

氟苯咪唑的致突变性试验

张 辉*

(江苏省连云港市药品检验所, 连云港 222001)

摘要 通过诱发 CHL 细胞染色体畸变的体外试验和小鼠骨髓细胞染色体的体内试验这两条途径来检测该药的致突变性, 结果显示: 在体内试验中, 氟苯咪唑(640—1280mg/kg)与阴性对照组(N.S.)相比, 有非常显著的差异($P < 0.01$); 在体外试验中, 氟苯咪唑(0.38—1.56 μ g/ml)培养24 h和48 h对CHL细胞所诱发的染色体变化率显阳性。

关键词 氟苯咪唑 药物致突变性 CHL细胞试验 微核试验

氟苯咪唑(Flubendazole)为一种新型抗蠕虫类药, 临床疗效显著^[1], 而该药的致突变性试验结果未见报道。我们通过小鼠骨髓微核试验和CHL培养细胞染色体畸变试验, 来检测其致突变性。

1 材料

1.1 药物 氟苯咪唑(由宁夏化工研究所提供); 环磷酰胺(Cyclophosphomidum, Cy)(批号880418, 上海第十二制药厂生产); 硫酸醛基长春新碱(Vincristini Sulfas, VCR)(批号880210, 兴明制药厂生产)。

1.2 细胞株 日本引进CHL细胞(中国仓鼠肺细胞)。

1.3 培养基 RPMI MEDIUM 1640培养粉(USA产品); 小牛血清(批号890717, 南京卫岗血清厂)。

1.4 动物 昆明种小鼠, δ , 22 $\pm$ 2 g(江苏省药品检验所实验动物房提供)。

2 方法

2.1 诱发CHL细胞染色体畸变试验 将氟苯咪唑溶于二甲基亚砷(DMSO), VCR溶

于生理盐水(N.S.)。首先将氟苯咪唑的几个不同剂量分别加入经过3d培养的含有RPMI MEDIUM 1640及10%小牛血清培养液中, 置37 $^{\circ}$ C培养48 h, 求得50%生长抑制剂量, VCR选择了产生染色体畸变的剂量。药物在不加 S_0 混合物时, 处理24 h和48 h后分别收获细胞; 在加 S_0 混合物时, 药物处理6 h后, 除去 S_0 和药物, 再加入小牛血清培养18 h收获细胞。在收获细胞前2 h加入秋水仙素(0.2 μ g/ml), 按常规方法制备染色体。

将染色体畸变类型分为五种分别为: 染色单体间隙(s); 染色单体断裂(b); 染色单体易位(t); 环状染色体(r); 多倍体(p)。以%表示畸变率, 其中间隙不计入总的畸变率, 并规定: 阴性 $< 4.9\%$; 可疑5.0—9.9%; 阳性 $> 10\%$ ^[2]。

2.2 小鼠骨髓细胞染色体试验 选用昆明种小鼠, δ , 每组6只, 随机分组。即给药组; 阳性对照组和阴性对照组。所有药物加入N.S., 采取一次性灌胃给药, 给药24 h后处死动物, 取其股骨骨髓, 用直接涂片法, 甲醇固定10 min, 吹干, 用Giemsa染色(pH 6.8)。每只小鼠镜检1000个骨髓嗜多染红细

*张 辉, 男, 30岁。江苏省职工医科大学药学专业毕业, 药师。

胞的微核。微核的出现率以%表示，并且计算多染红(P)和正染红(N)细胞的比例，经统计处理，确定P值，判断结果^[3]。

3 结果

3.1 诱发CHL细胞染色体畸变试验 氟苯咪唑对CHL细胞有一定的毒性，其抑制50%细

胞生长的剂量为1.56μg/ml，以此剂量作为该药物对染色体畸变试验的最高剂量。初步研究表明：氟苯咪唑在0.39—1.56 μg/ml的浓度范围内，不同时间对诱发CHL细胞的染色体变化率显阳性，并有明显的剂量依赖关系(见表1)。在代谢活化的情况下，即应用哺乳动物肝脏微粒体酶(S₉)作为代谢活化

表1 氟苯咪唑对CHL细胞染色体畸变的影响

药 物	剂 量 (μg/ml)	S ₉	时 间 (h)	染 色 体 畸 变 类 型					畸 变 率 (%)
				g	b	p	r	t	
氟苯咪唑	0	-	24	1		1			1
	0.195	-	24	2	1	37		1	37*
	0.39	-	24	3	1	56			56*
	0.78	-	24	2	2	65		1	68*
	0	-	48	1		2			2
	0.195	-	48	2	2	70	1		73*
	0.39	-	48	1	1	80		1	80*
	0.78	-	48	2	2	86			86*
	0	+	6	6	1.5	1			2.5
	0.195	+	6	5		1	0.5		1.5
	0.39	+	6	3	1	3	0.5		3
	0.78	+	6	8	1	2.5	1		3
DMSO	5μl/ml	-	24	3	1				1
		-	48	1		1			1
		+	6	7					0
VCR	8	-	24	2		52			52*
	8	-	48	4		100			100*

(*表示阳性)

物，则该药物显阴性。VCR获阳性反应。

3.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核试验 结果表明：氟苯咪唑在640-1280 mg/kg的剂量范围内，对诱发小鼠骨髓多染红细胞的微

核率显示阳性，其微核率分别为5.17%，7.67%，经统计处理与N.S组比较有非常显著的差异(P<0.01)。阳性对照组(Cy)与N.S组相比差异同样非常显著(P<0.01)。

表2 氟苯咪唑对小鼠骨髓微核试验的影响

药 物	剂 量 (mg/kg)	出现微核的 多染红细胞数	微核率(%) ($\bar{x} \pm s$)	P/N
氟苯咪唑	320	23	3.83±1.73	1:1.19
	340	31	5.17±1.94*	1:1.18
	1200	46	7.67±2.58*	1:1.12
NS		3	0.50±0.21	1:1.23
Cy	350	155	25.83±3.19*	1:1.30

n = 6000, *与N.S组比较P<0.01

4 讨论

细胞染色体畸变系统重复性好, 灵敏性强, 是观察染色体畸变的有用手段。为防止假阴性的出现用50%细胞生长抑制剂量作为染色体畸变试验的最高剂量, 实验发现细胞接触氟苯咪唑后, 细胞的形态发生了变化, 处于间期的细胞肿胀, 处于中期的细胞又大又圆, 在每个剂量组中都能收集到大量的中期分裂相细胞。观察各剂量组: 在非代谢的情况下, 随着剂量的上升和药物接触细胞时间的增加, 其畸变细胞数也相应增加。实验数据提示药物的作用时间和剂量与细胞发生染色体的畸变率成线性正比关系。镜检观察到药物产生的染色体畸变类型主要是多倍体, 氟苯咪唑在48 h竟高达86%(见表1), 产生多倍体的原因可能是由于该药物干扰了纺锤体细胞器的功能, 阻止了细胞分裂时纺锤体的形成, 从而导致多倍体的产生。实验中选用了已知的纺锤毒剂 VCR作为对照物, 结果表明: 在不加 S_0 混合液的情况下, VCR与氟苯咪唑反应相同, 产生了多倍体畸变, 说明氟苯咪唑可能为一纺锤毒剂。而在代谢

活化的情况下, 即氟苯咪唑加入 S_0 后, 使染色体畸变试验为阴性, 原因是由于药物与 S_0 混合液接触后, 起生物转化反应, 使药物灭活, 因而变为阴性。

在微核实验中, 以氟苯咪唑的 $1/2LD_{50}$ 为最高剂量, 然后按倍倍稀释的原则^[4]。从表2可以看出氟苯咪唑产生微核的最高率为7.67%, 证明该药物具有损伤小鼠骨髓细胞染色体的遗传毒性。

通过体外的培养细胞染色体畸变试验和体内的小鼠骨髓微核试验, 发现氟苯咪唑可能具有一定的细胞遗传毒性, 此种不良反应应值得注意。

致谢 本实验承蒙江苏省药品检验所药理室郭巧生、汪岱迪、金卫红药师的指导。

参 考 文 献

- 1 蒋则孝等. 广谱抗蠕虫新药——氟苯达唑. 新药与临床, 1985, 4(6):347.
- 2 张辉. 盐酸左旋咪唑和甲苯咪唑的致突变性试验研究. 华西药学期刊, 1992, 7(3):156
- 3 黄幸纾等主编. 环境化学物质致突变. 致畸、致癌试验方法. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985.
- 4 张辉. 国产氟苯达唑对小鼠骨髓细胞致突变性试验的研究. 西北药学期刊, 1991, 6(3):18

Mutagenicity Test of Flubendazole

Zhang Hui

(Lian Yun Gang Institute for Drug Control, Jiang Su 222001)

Abstract Flubendazole is an anthelmintic. The test examined mutagenicity of this drugs according to Provisions For New Drug Approval of the Country. The mutagenicity tests were performed with Chinese hamster lung cell test and micronucleus test.

The mice were used in the micronucleus test. The animals were divided in groups including test drug group, cyclophosphamide (350 mg/kg) group (positive control), and the N.S group (negative control). The results showed that the mutagenicity of flabendazole (640-1280 mg/kg) is significant ($p < 0.01$) as compared with the negative control.

The Chinese hamster lung cell test were divided in groups including test drugs group, vineristini sulfas (8 μ g/ml) group (positive control). The results also showed that flabendazole (0.39—1.56 μ g/ml) may induced gene mutation.

Key words flubendazole mutagenicity CHL test micromucleus test

收稿日期: 1992—03—27