

Mutagenicidad de algunas piridoquinazolonas

M. A. JIMÉNEZ Y M. TORROELLA

Lab. Mutágenos y Cancerígenos Ambientales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de la Habana, Cuba

Recibido: 16 de septiembre de 1981

Recibido: 13 de enero de 1982

ABSTRACT. Mutagenicity of some derivatives of 11-H-pyridoquinazolin-11-one (pyridoquinazolone or PQ) were evaluated on two genetic systems that employ microorganisms. These assays are inexpensive, and also rapid responses are obtained. One of these compounds had shown bronchodilator properties and was found that in bacteria and yeast the 2-amine derivative was a powerful mutagen. Its strong mutagenic activity indicates that can not be longer developed as a bronchodilator drug. A priority for pharmacological evaluation was established.

RESUMEN. La mutagenicidad de algunos derivados de la 11-H-piridoquinazolín-11-ona (piridoquinazolona o PQ) fue evaluada en dos sistemas genéticos en microorganismos; uno que emplea bacterias y otro levaduras. Estos ensayos son útiles debido a su bajo costo y rapidez. Un derivado 2-amino de la PQ había mostrado relevantes propiedades broncodilatadoras "in vitro" e "in vivo", de ahí el interés de estudiar esta familia desde el punto de vista de su genotoxicidad. Se encontró que este compuesto y tres derivados más resultaron potentes mutágenos. La fuerte actividad mutagénica hallada en bacterias y levaduras indica que no deben ser empleadas como broncodilatadores. Se estableció un criterio de prioridad para la evaluación farmacológica.

INTRODUCCION

Dentro de una gran variedad de metodologías que detectan actividad mutagénica de compuestos químicos, resaltan por su efectividad y sencillez los sistemas que usan microorganismos.

Existe actualmente un considerable número de trabajos que reportan el uso de bacterias y levaduras en la identificación de compuestos con actividad genética¹⁻³. En el caso de la bacteria *Salmonella typhimurium*

se sabe que resulta la prueba a corto plazo con base genética más universalmente difundida y empleada, habiéndose revalidado por diferentes autores para varias clases de compuestos químicos carcinogénicos y no carcinogénicos⁴⁻⁷ dando correlaciones entre mutágeno y cancerígeno alrededor del 90%. Las levaduras también han demostrado eficiencia, habiendo sido validadas para un conjunto de compuestos cancerígenos y no cancerígenos y arrojando en uno de los estudios un 88% de correlación entre los eventos genéticos que se manifiestan y la producción de cáncer⁸.

En el presente trabajo se emplea la bacteria *Salmonella typhimurium* y la levadura haploide *Schizosaccharomyces pombe* en la evaluación de dos compuestos sintetizados en el Laboratorio de Síntesis Orgánica del CENIC por un método novedoso⁹. La 11-piridoquinazolín-11-ona y su derivado 2-amino se evaluaron genotóxicamente con los sistemas mencionados, además se realizó un estudio preliminar de otros seis derivados empleando la *Salmonella*.

La 2-aminopiridoquinazolona había demostrado interesantes propiedades farmacológicas "in vitro" e "in vivo" y producía menor efecto negativo sobre el aparato cardiovascular que medicamentos establecidos como el salbutamol y la aminofilina, así como menor toxicidad aguda, de ahí el interés en evaluar desde el punto de vista de la genotoxicidad a una droga con tan promisorias características, así como a otros derivados de la molécula base, la piridoquinazolona.

Según Arruzazabala y cols.¹⁰ la 2-APQ mostraba propiedades broncodilatadoras "in vivo" y un efecto cardiotónico favorable "in vivo". Este compuesto había producido menos taquicardia que medicamentos en uso como el salbutamol y la aminofilina, de ahí el gran interés que despertó este compuesto como candidato a futuro antiasmático. La PQ habiendo mostrado un efecto traqueorelajante "in vitro" resultó un cardiorelajante fuerte "in vivo" y como consecuencia de ello los animales en prueba morían. Es decir, a las dosis a que se esperaba observar el efecto broncodilatador el compuesto resultaba tóxico. El estudio publicado por los citados autores fue realizado en ratas.

MATERIALES Y METODOS

Material Biológico

Cepas de bacterias: Se emplearon cinco cepas auxótrofas a la histidina de la bacteria *Salmonella typhimurium* obtenidas por Ames (Universidad de California) y que poseen diversas modificaciones que aumentan la sensibilidad a los mutágenos químicos pudiendo detectar mutaciones de diferente origen. Estas cepas presentan una mutación que bloquea la síntesis de un lipopolisacárido de la membrana, esta mutación (Rfa⁻) aumenta la permeabilidad a molécula de tamaño relativamente grande. Además tiene otra mutación (UVR B⁻) que altera la reparación del DNA permitiendo que se fije la mutación ocurrida. La TA-1535 y TA-100 re-vertien (retromutan hacia independencia a histidina) ante mutaciones de tipo de sustitución de pares de base (Ej: agentes alquilantes) y la TA-1537, TA-1538 y TA-98 ante mutación por corrimiento del marco de lectura (frameshift) (Ej: agentes intercalantes). La TA-100 y TA-98 provienen de la TA-1535 y TA-1538 respectivamente y poseen el plásmido pKM 101 que les confiere resistencia a la Ampicillina y una mayor sensibilidad a algunos mutágenos¹¹.

Estas cepas le fueron convenientemente controladas sus fenotipos y conservadas en nitrógeno líquido. Las colonias de revertantes (independientes a la histidina) fueron contadas sobre medio mínimo Vogel Bonner¹. Los controles positivos para respuestas mutagénicas conocidas fueron hechas según Ames y cols.¹ y de Serres y Shelby¹².

Cepa de levadura: La levadura *Schizosaccharomyces pombe* P₁ (SP-198 ade 6-60, rad 10-198, h⁻) fue cedida por el Prof. Loprieno, del Laboratorio de Genética, Pisa, Italia. La sigla de la cepa significa que el mutante número 60 del locus ade 6 se produjo espontáneamente de la cepa original rad 10-198, el mutante rad 10-198 presentaba una alteración en el mecanismo de reparación de daños en el DNA, esta característica hace más sensible esta cepa a los mutágenos químicos y físicos¹³. Las colonias salvajes de esta levadura son blancas pero las mutaciones ade-6 presentan un color rojo púrpura debido a la acumulación de un pigmento que le confiere esa coloración. Si un mutante de este tipo recibe una segunda mutación en una de los cinco genes que anteceden a este paso enzimático la colonia formada será de color blanco, pero continuará siendo auxótrofa a la adenina. (Fig. 1).

*Salmonella typhimurium*¹⁰Retromutación: his⁻ → his⁺

TA 100 → Detectan mutágenos que
 TA 1535 actúan por cambio de pares
 de base

TA 98

TA 1537 → Detectan mutágenos
 TA 1538 frameshift

Schizosaccharomyces pombe (cepa P₁)¹²

Mutación forward: ade 6 → ade 6 / ade X

SP-198 ade 6-60 / red 10-198 / h⁻

Fig. 1. Cepas empleadas

Este organismo se hace crecer en medios ricos; líquido YEL y sólido YEA según Loprieno¹³. Los controles positivos con mutágenos se realizaron según Loprieno y Von Borstel⁸.

Animales: Las ratas empleadas fueron machos Wistar del Bioterio CENIC proveniente de camadas obtenidas por cruces al azar, con un peso de 180-200 g y de 2 meses de nacidas. Las mismas fueron utilizadas en la obtención de la fracción S9.

Fracción S9: El sobrenadante de la fracción post-mitocondrial de hígado de rata inducidas con Arodor 1254 se denomina comúnmente como fracción S9 (centrifugación a 9000 g) y fue preparada según el método de Ames y cols¹. El sobrenadante de la fracción post-mitocondrial (9000 g/20 minutos) fue conservada en nitrógeno líquido en viales de 2 ml hasta su uso. La actividad biológica de esta fracción fue chequeada por la actividad de la aminopirina demetilasa por la medición de la formación de formaldehído¹⁴. Cada batch de S9 fue también evaluado para su eficacia de convertir promutágenos en mutágenos terminales en el Test de Ames, específicamente la producción de revertantes por 10 microgramos de 2,4-diaminoanisól⁴.

Métodos

Prueba de incorporación en placas de Salmonella typhimurium (test de Ames). Fue empleada la metodología reportada por Ames y cols.¹ sin modificación. Cada valor de revertantes por placa proviene de dos experimentos independientes (cada dosis por duplicado) y reportado por la media y la desviación standard ($\bar{x} \pm DS$).

Para hacer las curvas dosis-respuesta ha sido sustraído a cada valor de revertantes en cada dosis el valor de los controles con el objetivo de llevar a cero la recta como usualmente se realiza en la literatura. El análisis estadístico se realizó según Zar¹⁵.

Los ensayos se realizaron en presencia y ausencia de la mezcla S9. La proporción de S9 en la mezcla S9 fue de 10% y 0,5 ml de esta mezcla se adicionó a cada placa en los casos que se requería activación metabólica.

Ensayo de mutagenicidad en la levadura S. pombe. El sistema genético empleado fue el de mutación hacia delante de la cepa haploide de *Schizosaccharomyces pombe* diseñado por Loprieno¹³ que detecta mutaciones en varios loci adenina en una cepa originalmente auxótrofa para dicho metabolito. Los tratamientos en este caso se realizaron según Loprieno y Von Borstel⁸, en el cual las células son puestas en contacto con el compuesto en un medio no nutritivo (tampón) y en condiciones que no permiten el crecimiento, se lavan al terminar el tiempo de exposición y finalmente se siembran sobre un medio rico en que crecen.

Compuestos. Los compuestos ensayados (Fig. 2) fueron la 11-H-piridoquinazolín-11-ona (PQ) y otros siete derivados: 2-amino PQ, 3-amino PQ, 4-amino PQ, 3-cloro PQ, 8-metil PQ, 9-metil PQ y 2-metoxi PQ. Todos estos compuestos fueron sintetizados por el método reportado por Pellón y Rodés⁹ en el laboratorio de Síntesis Orgánica del CENIC bajo patente cubana número 34250. Los mismos fueron considerados de alta pureza por criterios de espectrometría de masas e infrarroja y de sus puntos de fusión. La 2-amino pirido-quinazolona (2-APQ) y la pirido quinazolona (PQ) fueron estudiadas en forma clorhidrato. El solvente para la 2-APQ y para el PQ fue agua, para levadura y dimetil sulfóxido (DMSO) para *Salmonella*. El resto, que fue evaluado en *Salmonella* se disolvió en DMSO, el que era de grado espectrofotométrico de la BDH.

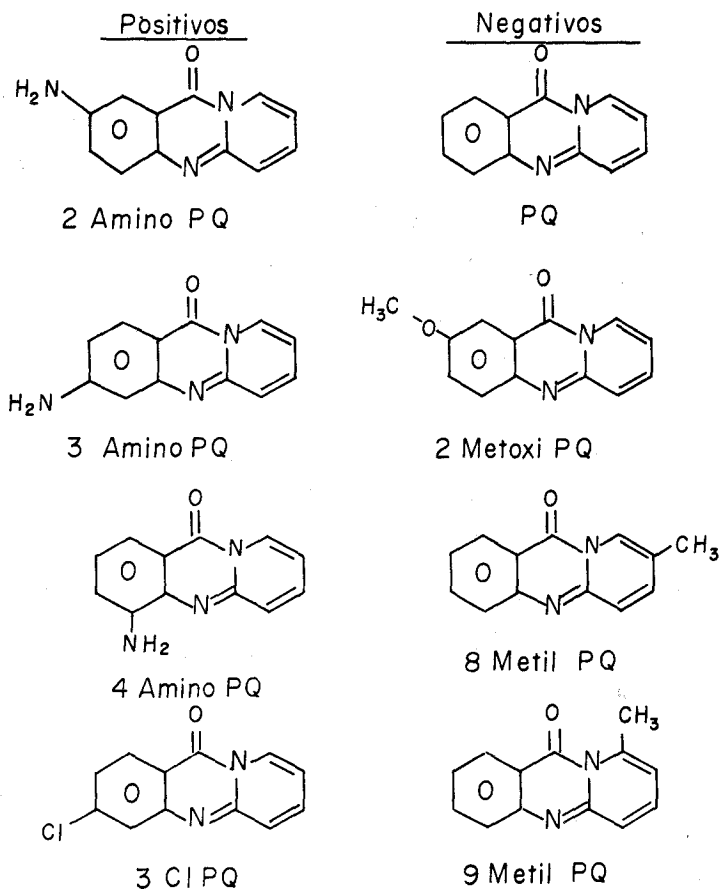


Fig. 2. Derivados de las piridoquinazolonas

Las concentraciones empleadas en cada caso fueron seleccionadas en experimentos de toxicidad y dependiendo de la solubilidad del compuesto en estudio.

La 2-APQ en *Salmonella* se empleó desde 0,01 hasta 500 mcg por placa. En levadura desde 0,05 hasta 1,25 milimolar.

La PQ en *Salmonella* se empleó desde 10 hasta 1000 mcg por placa y en levadura desde 0,004 hasta 2mM. Las concentraciones intermedias y otros datos aparecen en las Tablas I, IV, V y VI.

Con los otros derivados que se evaluaron en *Salmonella* se emplearon desde 10 hasta 1000 microgramos por placa como ha sido sugerido por Ames y cols.¹ para estudios masivos.

RESULTADOS

Ensayos de mutagenicidad de la 2-aminopirido quinazolona

En el sistema de Salmonella: En la Tabla I se presenta el efecto de la 2-APQ sobre las cinco cepas en presencia de activación metabólica (+S9) o en ausencia de la misma.

En presencia de S9 se aprecia ya a muy bajas concentraciones un incremento significativo de los revertantes por placa con todas las cepas. En ausencia de la fracción metabolizante la respuesta fue más discreta en la TA-100, TA-98 y TA-1538 y no fue estadísticamente significativa en la TA-1535 y TA-1537 para un 95% de confiabilidad. En la Fig. 3 aparecen las rectas de regresión obtenidas con cada cepa en presencia de S9 y en la Fig. 4 en ausencia de la misma. Puede ser apreciable que estamos en presencia de un potente mutágeno que hace revertir tanto a las cepas que responden frente a mutágenos de sustitución de pares de bases, como a mutágenos de tipo "frameshift". También se observa que el metabolito originado en la transformación efectuada por las enzimas hepáticas es mucho más activo que el compuesto original.

En la Tabla II se ofrecen los valores de revertantes por nanomol calculados para la 2-APQ en las cinco cepas y con las dos variantes empleadas: con y sin activación metabólica. En esta Tabla se puede apreciar la diferencia en respuesta cuando fue empleada la fracción S9. En la Tabla III se ofrecen algunos valores en revertantes por nanomol de algunos mutágenos conocidos que difieren en un amplio rango de potencia respecto al valor obtenido para la 2-APQ con la TA-98 en presencia de la fracción post-mitocondrial hepática de rata. Las potencias de los compuestos van desde muy alta (furfuramida) hasta muy baja (cloruro de vinilo).

TABLA I

Ensayos de mutagenicidad con el 2-amino pirido quinazolona en presencia y ausencia de activación metabólica (S9)

CEPAS μg/placa	TA-100		TA-98		TA-1535		TA-1537		TA-1538	
	Revertante/ +S9 X ± DS	placa -S9 X ± DS	Revertante/ +S9 X ± DS	placa -S9 X ± DS	Revertante/ +S9 X ± DS	placa -S9 X ± DS	Revertante/ +S9 X ± DS	placa -S9 X ± DS	Revertante/ +S9 X ± DS	placa -S9 X ± DS
Solvente										
agua	119 ± 5	110 ± 13	28 ± 6	29 ± 8	12 ± 3	12 ± 4	8 ± 2	5 ± 2	20 ± 6	13 ± 3
0.01	—	—	106 ± 7	—	—	—	—	—	58 ± 7	—
0.25	—	—	240 ± 49	—	—	—	—	—	143 ± 10	—
0.05	197 ± 10	—	510 ± 22	—	—	—	—	—	273 ± 34	—
0.1	228 ± 17	—	1204 ± 94	—	—	—	—	—	638 ± 65	—
0.2	461 ± 36	—	2225 ± 108	—	32 ± 5	—	60 ± 6	—	1200 ± 139	—
0.3	—	—	3368 ± 176	—	—	—	—	—	1788 ± 97	—
0.4	831 ± 39	—	4488 ± 245	—	48 ± 8	—	101 ± 8	—	2299 ± 63	—
0.5	940 ± 20	—	t	—	—	—	—	—	3231 ± 84	—
0.6	1144 ± 118	—	—	—	74 ± 2	—	196 ± 14	—	t	—
0.8	1614 ± 91	—	—	—	120 ± 24	—	272 ± 36	—	—	—
1	1895 ± 120	—	—	—	152 ± 36	—	321 ± 43	—	—	—

25	t	—	—	64 ± 17	t	—	—	—	49 ± 16
50	—	147 ± 18	—	83 ± 28	—	21 ± 9	7 ± 4	—	102 ± 18
100	—	194 ± 31	—	104 ± 5	—	20 ± 4	10 ± 2	—	91 ± 13
200	—	395 ± 68	—	182 ± 20	—	32 ± 4	11 ± 4	—	106 ± 11
300	—	510 ± 54	—	250 ± 16	—	28 ± 9	12 ± 6	—	196 ± 40
400	—	t	—	287 ± 17	—	30 ± 9	10 ± 2	—	248 ± 13
500	—	—	—	t	—	24 ± 8	8 ± 3	—	t

Con-	r	0.9956	0.9675	0.9987	0.9810	0.9584	0.4800	0.9852	0.9955	0.9366
side-	F	1821.54	117.13	5822.82	306.82	112.93	3.63	331.13	1781.56	85.86

Sig-
nifi-
fica-
tivi-
dad
 $\alpha = 0,05$

NS

NS

t (Dosis Tóxica), X(Media), DS(Desviación standard), NS (Estadísticamente no significativo), r (Coeficiente de correlación lineal), F de Fischer proveniente del análisis de varianza) *** (Altamente significativo).

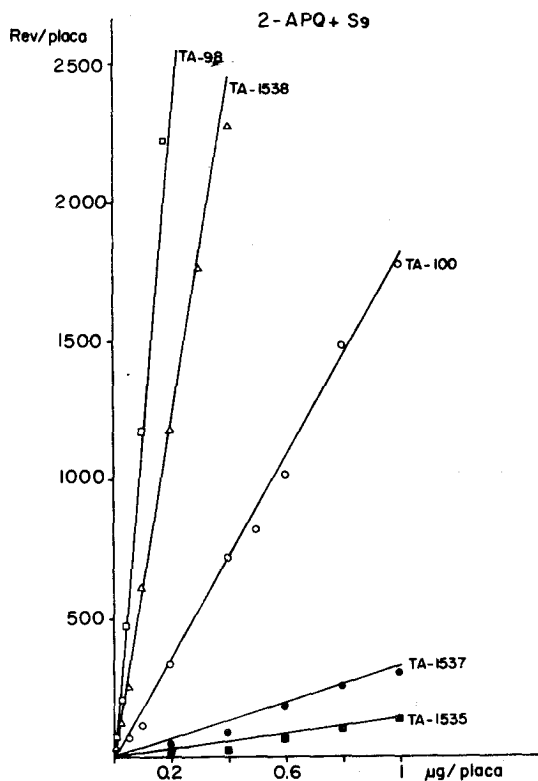


Fig. 3. Curvas dosis-efecto del compuesto 2-APQ en presencia de activación metabólica (+S9) y las cinco cepas de *Salmonella typhimurium*.

En el sistema de levadura: En la Tabla IV se muestran los valores de frecuencia de mutantes y supervivencia hallados en los tratamientos de la levadura *S. pombe* con la 2-APQ pudiéndose observar el incremento respecto al control obtenido, tanto en presencia como en ausencia de la fracción hepática. En la Fig. 5 aparece la relación dosis-efecto expresada en las rectas de regresión tratadas con los valores de frecuencia de mutantes provenientes de 19 pares de valores cada una, ya sea en presencia o en ausencia de la fracción metabólica hepática (S9). La respuesta fue más fuerte en presencia de S9 aunque la diferencia fue menos marcada que en el caso de *Salmonella*,

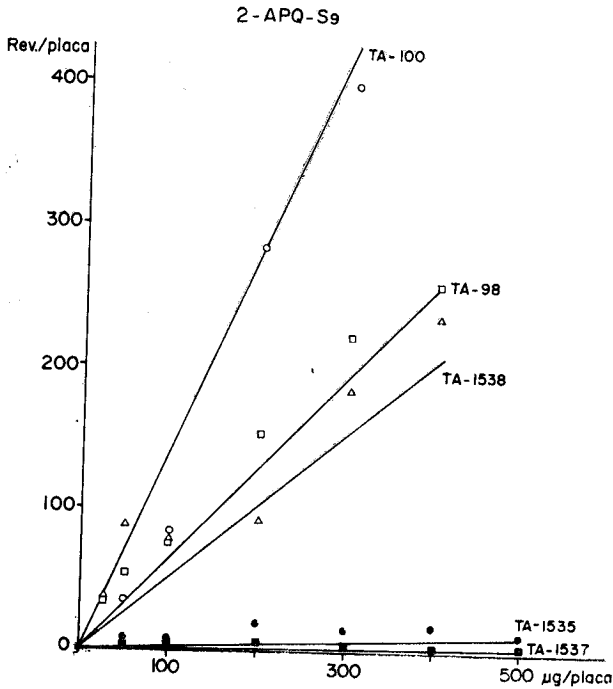


Fig. 4 Curvas dosis-efecto del compuesto 2-APQ en ausencia (-S₉) de la fracción hepática con las cinco cepas de *Salmonella typhimurium*.

TABLA II

Valores de revertantes por nanomoles obtenidos de las diferentes curvas dosis-efecto en las cinco cepas *Salmonella typhimurium*, con y sin activación metabólica con el compuesto 2*APQ

CEPA	S ₉	REV/NMOL
TA-98	+	2773
TA-1538	+	1516
TA-100	+	448
TA-1537	+	81
TA-1535	+	35
TA-100	-	0.3505
TA-98	-	0.1593
TA-1538	-	0.1270
TA-1535	-	0.0057
TA-1537	-	0.0011

TABLA III

Valores de revertantes por nanomol de otros compuestos mutágenos comparados con el 2-APQ

COMPUESTO	REVERTANTES/NANOMOL
Furilfuramida (AF-2)	20800
Azaserina	12000
Aflatoxina B ₁	7057
4-NQ-1-Oxido	2906
2 APQ	2773
Aflatoxicol	2220
Streptozotocin	1949
Niridazol	1752
MNNG *	1375
2-Nitrofluoreno *	1940
Azida de Sodio *	150
2-Ac AF *	108
9-Aminoacridina *	10
2-Naftilamina *	8.5
MMS *	0.63
N-Nitrosomorfolina	0,063
Cloruro de Vinilo	0.0093

* Mutágenos standard

Ensayo de mutagenicidad con la piridoquinazolona (PQ)

En el sistema de Salmonella: La PQ que es la molécula sin sustituyentes no mostró efecto mutágeno en ninguna de las cinco cepas de *S. typhimurium* en presencia o ausencia de activación metabólica. En la Tabla V se ofrecen datos obtenidos en los experimentos realizados.

En el análisis estadístico efectuado no fueron encontradas diferencias significativas entre las dosis aplicadas y el control, la dosis máxima estuvo determinada por la toxicidad del compuesto.

En el sistema de lavadura: En la Tabla VI aparecen los resultados encontrados en *S. pombe*. La dosis máxima en este caso estuvo determinada por el límite de solubilidad. Al igual que en la *Salmonella* este compuesto no evidenció efecto genético alguno sobre el organismo en tratamiento.

TABLA IV

Análisis de la acción mutagénica del 2 APQ en la levadura haploide S. pombe (cepa p₁: mutación forward)

Dosis (mM)	Frecuencia de mutante X 10 ⁻⁴		% Supervivencia	
	+S9	-S9	+S9	-S9
0	1.51 ± 0.68	2.32 ± 1.63	100	100
0.05	1.49 ± 0.44	1.06 ± 0.25	52.20	100.06
0.1	2.58 ± 0.57	3.65 ± 0.51	100.28	107.31
0.25	2.92 ± 0.36	1.28 ± 0.57	17.01	42.52
0.6	7.94 ± 4.63	4.02 ± 1.74	45.47	112.93
0.9	8.85 ± 6.25	3.78 ± 1.94	25.80	108.62
1.25	7.16 ± 3.32	8.47 ± 2.81	43.17	28.59

+S9: $y = 1.7716 + 7.2134 x$; $r = 0.77^{**}$

-S9: $y = 2.0016 + 3.1694 x$; $r = 0.61^{**}$

donde y = frecuencia de mutante $\times 10^{-4}$; x = mM

Tiempo de tratamiento: 2 horas

± Activación metabólica (S9 de rata)

Ensayo con otros derivados de la piridoquinazolona: Resultados preliminares en *Salmonella* mostraron que los derivados 3-aminopiridoquinazolona y 4-amino piridoquinazolona presentaban propiedades mutagénicas, asimismo, el derivado 3 cloro piridoquinazolona mostró efecto mutagénico de más intensidad que los derivados 3- y 4-amino. Por otra parte pudo establecerse que la mutagenicidad de los derivados amino aumentó en el orden 4-3-2 de la posición de sustitución.

Es interesante observar que todos los compuestos que resultaron positivos mostraron mucha más potencia en presencia de la fracción hepática y especialmente sobre las cepas que responden ante mutaciones de tipo de cambio de marca de lectura (Mutación "frameshift").

Otros derivados de la piridoquinazolona como son la 8 y 9 metil y la 2-metoxi piridoquinazolona no mostraron, al igual que la molécula sustituida (PQ) efectos mutagénicos, al menos hasta concentraciones tan altas como 500 mcg por placa, tanto en ausencia como en presencia de actividad metabólica.

TABLA V

CEPAS	TA-100		TA-98		TA-1535		TA-1537		TA-1538	
	Revertante/placa +S9 X ± DS	Revertante/placa -S9 X ± DS	Revertante/placa +S9 X ± DS	Revertante/placa -S9 X ± DS	Revertante/placa +S9 X ± DS	Revertante/placa -S9 X ± DS	Revertante/placa +S9 X ± DS	Revertante/placa -S9 X ± DS	Revertante/placa +S9 X ± DS	Revertante/placa -S9 X ± DS
Solvente										
DMSO	109 ± 20	132 ± 37	49 ± 16	22 ± 4	8 ± 1	8 ± 2	14 ± 3	9 ± 2	17 ± 5	9 ± 3
10	122 ± 31	118 ± 4	59 ± 29	19 ± 6	10 ± 4	8 ± 2	5 ± 2	10 ± 2	24 ± 11	9 ± 3
50	161 ± 9	116 ± 5	47 ± 8	31 ± 4	14 ± 2	9 ± 1	13 ± 2	11 ± 3	26 ± 5	10 ± 2
100	128 ± 18	113 ± 7	52 ± 4	22 ± 6	9 ± 3	8 ± 2	11 ± 3	15 ± 3	25 ± 3	6 ± 3
500	141 ± 9	92 ± 8	47 ± 4	40 ± 12	12 ± 3	10 ± 3	11 ± 3	12 ± 4	31 ± 13	11 ± 1
1000	t	t	35 ± 2	t	t	9 ± 2	22 ± 17	14 ± 3	t	t
Tra- r	0.2464	-0.5894	-0.2045	-0.0148	0.31	0.3408	0.0804	0.3835	0.4825	0.4259
tadisen- F	0.5163	4.2592	0.3492	0.0017	0.8507	1.3146	0.0521	1.7252	2.4282	1.7731
to es- signi- tadis- nifi- tico. cati- vidad	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
α = 0.05										

t (Dosis tóxica), X (Media), DS (Desviación standard, NS (Estadísticamente no significativo), DMSO (Dimetilsulfó- xido).

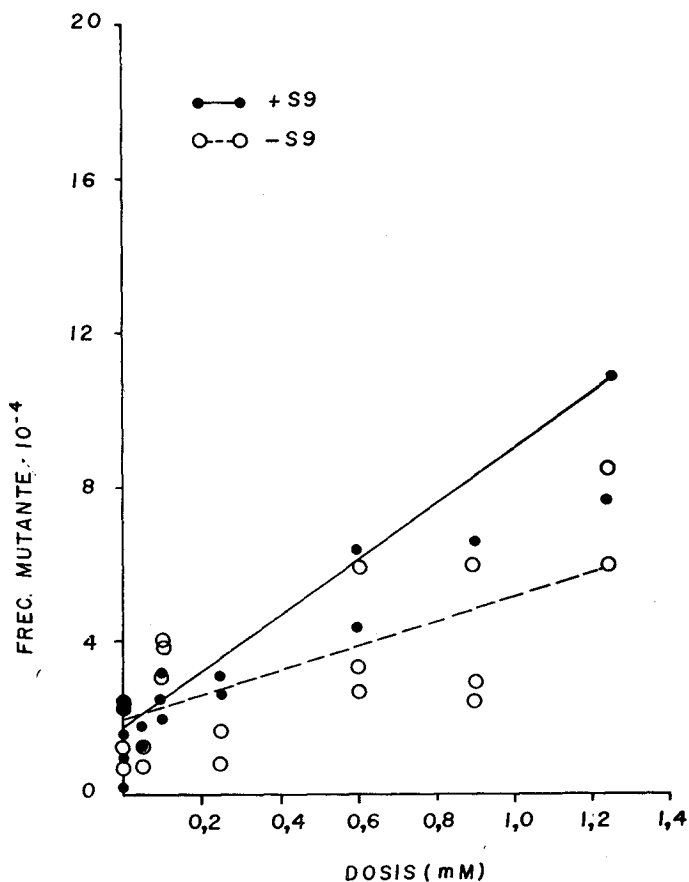


Fig. 5. Curva dosis-efecto de la actividad del 2 APQ en *S. pombe*.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Se ha descrito por Mc Cann y Ames¹⁶ que un gran número de mutágenos no presentan su acción si no son metabólicamente activados.

Estos mismos autores señalan que las moléculas compuestas por un sistema de anillos capaz de intercalarse en el DNA y presentar grupos laterales con capacidad de ataque electrofílico poseen una afinidad extra-

ordinaria con el DNA. Estos grupos laterales podían ser inicialmente no reactivos y transformarse en activos al metabolizarse en el hígado o en otro tejido. Se ha añadido por estos mismos autores que los mutágenos que se intercalan en el DNA después de ser metabólicamente activados (por aparición de centros electrofílicos en sus sustituyentes), representan un peligro mayor que un agente alquilante simple, ya que estos últimos pueden ser inactivados por reacción con grupos sulfidrilos o con proteínas en el sitio de entrada a la célula, mientras que la molécula con las características descritas más arriba (agente intercalante reactivo) tiene más posibilidades de llegar selectivamente al material genético.

TABLA VI

Análisis de la acción mutagénica del PQ en la levadura haploide S. pombe (cepas P₁: mutación forward)

Dosis (mM)	Frecuencias de mutante X 10 ⁻⁴		% Supervivencia	
	+ S9	- S9	+ S9	- S9
0	1.94	1.35	100	100
0.004	0.72	1.49	137.5	119.8
0.02	2.24	1.72	119.7	101.9
0.04	0.88	2.46	112.5	105.9
0.2	3.38	1.68	119.2	104.8
0.4	1.39	1.20	90.8	98.6
2.0	4.64	2.87	93.0	74.5

Tiempo de tratamiento: 2 horas

± Activación metabólica (S9 de rata)

De los resultados en *Salmonella* se puede añadir que aunque la 2-APQ, la 3-cloro PQ, 4-APQ y 3-APQ mostraron alguna actividad en ausencia de activación metabólica, puede interpretarse que estamos en presencia de agentes intercalantes de tipo reactivo aunque esta afirmación sólo puede hacerse con base científica suficiente si poseyéramos las cepas originales de *Salmonella* (aquellas que solamente tienen las mutaciones en el operón histidina). No obstante, la interpretación de los resultados se ajusta a la idea de que la molécula no sustituida, la pirido quinazolona no es mutágeno y en adición a esto, no todos los sustituyen-

tes confieren a la molécula la capacidad de ser mutágena, lo que puede deberse a que no todos los tipos de sustituyentes pueden servir para unirse electrofílicamente al DNA y favorecer el intercalamiento, ya sea que los mismos puedan ser agentes electrofílicos "per se", o que sean convertidos en ellos por el metabolismo hepático.

Este grupo de resultados confirmaron la idea de no seguir desarrollando la 2-aminopiridoquinazolona como futuro fármaco. También facilitaron la creación de un orden de prioridad en el estudio de los compuestos de nueva síntesis es decir, no desarrollar extensos estudios toxicológicos y farmacológicos sobre compuestos de los cuales no se conoce su poder mutagénico. Es interesante apuntar que en la estructura base, el sistema de anillos, no mostró propiedades mutagénicas, lo cual permite continuar el desarrollo de nuevas moléculas cuyos sustituyentes confieran a las mismas las propiedades farmacológicas esperadas sin presentar un riesgo genético y/o cancerígeno para el futuro consumidor.

REFERENCIAS

1. AMES B.N., MC CANN J. AND YAMASAKI E. *Mutation Research*, 31, 347, 1975.
2. SHAHIN M.M. AND VON BORSTEL R.C. *Mutation Research*, 53, 1, 1978.
3. ZIMMERMANN F.K. *Mutation Research*, 11, 327, 1971.
4. MCCANN J. AND AMES B.N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 950, 1976.
5. SUGIMUTA T., SATO S., NAGAO M., YAHAGI T., MARSUSHIMA T., SEINO Y., TAKEUCHI M. AND KAWACHI T. A critical review of submammalian systems for mutagen detection. Elsevier/North Holland Biomedical Press. Progress in Genetic Toxicology. (D. Scott; B.A. Bridges; F.H. Sobels Editores) 1977.
6. PURCHASE I.F.H., LONGSTUFF E., ASHBY J., STYLES J.A., ANDERSON D., LEFEVRE P.A. AND WESTWOOD F.R. *Br. J. Cancer* 37, 873, 1978.
7. BARTSCH H., MALEVEILLE C., CAMUS A.M., MARTEL-PLANCHE G., HAUTEVILLE A., SABADIE N., BARBIN A., KUROKI T., DREVON C., PICCOLI C. AND MONTESANO R. *Mutation Research*, 76, 1, 1980.
8. LOPRIENO N. AND VON BORSTEL R.C. Report 4: Supplement, 2, IARC, Lyon, 1980.
9. PELLÓN R. Y RODÉS L. Proceso de producción de la 11-H-pirido (2.1-b) 11 quina-zolona y derivados. Patente No. 34250, República de Cuba, 1975.

10. ARRUZAZABALA M.L., GONZÁLEZ R., CASACÓ A., ROJAS R., PELLÓN R. Y CARVAJAL D. *Revista de Ciencias Biológicas*, 13, 251, 1982.
11. AMES B.N., DURSTON W.E., YAMASAKI E. AND LEE F.D. *Proc. Acad. Sci U.S.A.* 70, 8, 2281, 1973.
12. DE SERRES I.J. AND SHELBY M.D. *Mutation Research*, 64, 159, 1979.
13. LOPRIENO N. *Genetic (suppl)* 73. 161, 1973.
14. NASH T. *Bioch. J.*, 55, 416. 1953. ,
15. ZAR J. *Biostatistic Analysis*. Prendice Hall Inc. New York, 1974.
16. McCANN H. AND AMES B.N. The Salmonella/microsome mutagenicity test: predictive value for animal carcinogenicity. *Origin of human cancer, 1977*. H.H Hatt; J.D. Watson; J.A. Winsten. (Editores). C.S.H. Labs New York. 1977.