

N,N,N',N'-Tetramethylacridin-3,6-yldiaminhydrochlorid und

(CAS-Nr.: 65-61-2)

N,N,N',N'-Tetramethylacridin-3,6-diaminmonohydrochlorid, Verbindung mit Zinkdichlorid

(CAS: 10127-02-3)

1. Allgemeines

Acridinorange (AO) bildet mit ZnCl_2 ein Doppelsalz, welches in Wasser und Alkohol mit orange-gelber Farbe und grüner Fluoreszenz löslich ist. AO ist eine lichtempfindliche Verbindung, die bei Lichteinwirkung Radikale bildet.

AO ist ein DNA-Interkalator mit metachromatischen Eigenschaften. Durch Ausbildung der Bindung zwischen dem kationischen AO und der polyanionischen DNA verändern sich die spektralen Eigenschaften von AO und es kommt zu einer Erhöhung der Acridinorange-Fluoreszenz. Je nach Bindungstyp resultieren unterschiedliche Fluoreszenzen: nach Bindung mit doppelsträngiger DNA entsteht eine grüne Fluoreszenz, bindet AO mit einzelsträngiger DNA oder RNA entsteht eine rote Fluoreszenz. Diese Eigenschaft wird in zytologischen Untersuchungen dazu verwendet, DNA bzw. RNA sichtbar zu machen (Richardson & Schulman, 1981). Die Bindung mit doppelsträngiger DNA verändert sich je nach AO-Konzentration: Bei niedrigen AO-Konzentrationen ($<10^{-5}$ M) entsteht durch Interkalation von AO zwischen zwei benachbarte Basenpaare der DNA eine starke nicht-kovalente Bindung, bei der je ein Farbstoffmolekül mit 4-5 Nukleotiden bindet; die AO-Moleküle liegen dabei in einer Ebene parallel zur Ebene der Basenpaare. Bei hohen Farbstoffkonzentrationen (mM) kommt es zur Ausbildung einer schwachen Bindung, bei der je ein Farbstoffmolekül mit einem Nukleotid bindet (Walle & Wong, 1989; Kubinski et al., 1981, Yamaoka, 1972).

2. Genotoxizität

Es liegen zahlreiche in vitro-Untersuchungen zur Genotoxizität vor (Tabelle 1). AO bewirkt Genmutationen in Bakterien, Hefen, Algen und Säugerzellen (Probst et al., 1981; Singh & Dikshit, 1976; Higuchi et al., 1976; Gray, 1971; Mamber et al., 1986; Nakamura et al., 1987; Oberly et al., 1984; Gasc & Sigard, 1978) sowie Chromosomenaberrationen (Popescu et al., 1977; Au & Hsu, 1979) und Schwesterchromatidaustausche (Crossen, 1979; Popescu et al., 1977). Weiterhin wurden Induktion von UDS (Probst et al., 1981; Curtain & Edgar, 1976, Scherer et al., 2000), DNA-Reparatur (Agrelo & Severn, 1981) und DNA-Schädigung (Blake, 1968) nachgewiesen. Durch die interkalierende Wirkung ist AO ein starker Inhibitor der DNA-, RNA- und Proteinsynthese (Heil & Reifferscheid, 1992; MacNaughton & Winder, 1977; Meneghini, 1974).

Die vorliegenden in vivo-Gentoxizitätsuntersuchungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

In einem Mikrokerntest an Mäusen (Swiss, 3/Gruppe) erhielten die Tiere i.p.-Applikation von 100, 200, 400 und 800 mg/kg in destilliertem Wasser und wiederholte Injektionen nach 24 h. Nach weiteren 6 h wurden die Mäuse getötet. Alle Tiere der höchsten Dosisgruppe starben 10 h nach der ersten Injektion. Weitere Informationen zu substanzbedingten toxischen Effekten liegen nicht vor. Bei den Tieren der 100, 200 und 400 mg/kg-Gruppen resultierte ein im Vergleich zur Kontrolle dosisabhängiger Anstieg der Mikrokerne im Knochenmark (Misra & Misra, 1986). Da in dieser Arbeit keine Positivkontrolle mitgeführt wurde und nur 3 Tiere pro Gruppe verwendet wurden, entspricht die Studie nicht den heutigen Validitätskriterien. Aufgrund der eingeschränkten Validität ist die Aussagefähigkeit dieser Studie fraglich.

Im Fellfleckentest wurden männliche Mäuse (T) mit Weibchen (C57BL, 18-44/Gruppe) verpaart. Am Tag 11 der Trächtigkeit erhielten die weiblichen Tiere i.p.-Injektionen mit 100 mg/kg AO. Die Nachkommen wurden 2 und 5 Wochen nach der Geburt auf Fellflecken untersucht. Es wurde eine im Vergleich zur Kontrolle geringfügig erhöhte Anzahl an Nachkommen mit Fellflecken (1-3/Gruppe) beobachtet (Fahrig, 1977).

In sogenannten Friedman-Straub-Test wurde die Hemmung der testikulären DNA-Synthese (Thymidin-Einbau) durch AO (200 mg/kg, i.p.) an Mäusen nach oraler oder i.p.-Applikation untersucht. Dabei war nach AO-Behandlung die DNA-Syntheserate signifikant reduziert (Seiler, 1977). In einer Arbeit von Donatsch et al. (1982) wurde untersucht, ob der Mechanismus für die Hemmung der testikulären DNA-Synthese auf einer substanzbedingten Hemmung der DNA-Synthese beruht. Es wurde festgestellt, dass hohe Dosierungen verschiedener mutagener oder nicht-mutagener Substanzen bei Versuchstieren zu einer Hypothermie und dadurch bedingt zu einem verminderten Thymidin-Einbau in die testikuläre DNA führen. Auch eine Hypothermie selbst verursacht diesen Effekt. Ausserdem konnte gezeigt werden, dass bei einigen Stoffen durch Themperaturausgleich (Isothermie) die Hemmung des Thymidin-Einbaus verhindert werden kann. Daraus ergibt sich, dass die Studie zur Hemmung der testikulären DNA-Synthese alleine kein ausreichender Hinweis auf eine mögliche Schädigung der Keimbahn darstellt.

Weiterhin wurde eine Reihe von Untersuchungen mit *D. melanogaster* durchgeführt. Es wurden positive bzw. schwach positive Ergebnisse im geschlechtsgebundenen Rezessiv-Letal-Test (Alba et al., 1983; Clark, 1953) und im spezifischen Lokus-Test (Xamena et al., 1984; Murakami, 1973) erhalten.

Als Mechanismus für die Mutagenität von AO wird die Interkalation des Moleküls zwischen angrenzende Nukleotid-Paare der DNA angesehen, was zu einer Rasterschubmutation führen kann (Roth, 1974).

Tabelle 1: Gentoxizität in vitro

Test	Organismus	Konzentration ^a	metab. Akt.	Ergebnis ^b	Bemerkungen	Literatur
Genmutation	L5178Y TK ^{+/−}	1,25-10 mg/l	+S9	+		Oberly et al. (1984)
Genmutation	Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1537, TA1538, TA1000, D3052, G46, C3076	≥0,5 mmol/l	+/- S9	+	+ nur mit S9 bei TA98, TA100, TA1537, TA1538, D3052	Probst et al. (1981)
Genmutation	Salmonella typhimurium TA1535, TA1538, Escherichia coli	25, 100, 150, 250 µg/Platte	+/- S9 (nicht induziert)	-		Rosenkranz & Poirier (1979)
Genmutation	Salmonella typhimurium G46, TA1532, Escherichia coli WP2 uvrA ⁺ , WP2 uvrA ⁻	0,5%	-	-	inkonsistentes Ergebnis für E. coli WP2 uvrA [*]	Mitchell (1974)
Genmutation	Escherichia coli WP2, uvrA ⁻	k.A.	+/- S9	-		Probst et al. (1981)
Genmutation	Escherichia coli WP2, WP2s, WP10, AB1157, AB1886, AB2463	0,6 mg/l	-		Endpunkt: Resistenz ggüb. Phage T5	Hass & Webb (1978)
Genmutation		20 µg/Platte	-			Biochimie 35,65,1976
Genmutation	Anabaena doliolum (Alge)	2, 5, 10 mg/l	-	+		Singh & Dikshit (1976)
Genmutation	Escherichia coli WP2 uvrA ⁻ , Saccharomyces cerevisiae	0,5%	-	-		Mitchell (1974)
Genmutation	Streptococcus mutans PK- 1, JC-2	400 mg/l	-	+		Higuchi et al. (1976)
Genmutation	Diplococcus pneumoniae	k.A.	-	+	Mutation am amiA-Lokus	Gray (1971)
Genmutation	Bakteriophage T4	16-20 mg/l	-	+		Orgel & Brenner (1961)
Genmutation	Streptococcus pneumoniae	12 mg/l	-	+	Mutation am amiA-Lokus	Gasc & Sigard (1978)
SOS-Chromotest (DNA- Schädigung)	Escherichia coli PQ37	100 mg/l	+/- S9	+		Mamber et al. (1986)
umu-Test	Salmonella typhimurium TA1535/pSK1002	3,3 mg/l	-	+		Nakamuara et al. (1987)
Mitotische Genkonversion	Saccharomyces cerevisiae JD1	≤20mg/l	-	+	keine Induktion von mitotischem Crossing-over	Davies et al. (1975)

Test	Organismus	Konzentration ^a	metab. Akt.	Ergebnis ^b	Bemerkungen	Literatur
Mitotische Genkonversion	Saccharomyces cerevisiae	k.A.		-		Mitchell (1974)
Mitotische Genkonversion	Saccharomyces cerevisiae			+	Induktion von ade und trp prototrophen Zellen	Fahrig (1970)
Chromosomen-aberration	humane Lungenzellen WI-38	1 mg/l	-	+		Allison & Paton (1965)
Chromosomen-aberration	V79-Zellen	1, 2,5 mg/l	-	+		Popescu et al. (1977)
Chromosomen-aberration	CHO	6 mg/l	-	+		Au & Hsu (1979)
Schwester-chromatid-austausch	humane Lymphozyten	0,5 mg/l	-	+		Crossen (1979)
Schwester-chromatid-austausch	V79-Zellen	1, 2,5 mg/l	-	+		Popescu et al. (1977)
unplanmäßige DNA-Synthese	Rattenleber	265-2653 mg/l		+		Probst et al. (1981)
unplanmäßige DNA-Synthese	Schaf, Lymphozyten	2653 µg/l	-	+	keine Positiv- und Negativkontrolle	Curtain & Edgar (1976)
unplanmäßige DNA-Synthese	Ratte, primäre Hepatozyten	796 µg/l	-	+		Schehrer et al. (2000)
unplanmäßige DNA-Synthese	Ratte, cryokonservierte Hepatozyten	796 µg/l	-	+		Schehrer et al. (2000)
unplanmäßige DNA-Synthese	Mensch, primäre Hepatozyten	796 µg/l	-	+		Schehrer et al. (2000)
unplanmäßige DNA-Synthese	Mensch, cryokon-servierte Hepatozyten	796 µg/l	-	+		Schehrer et al. (2000)

^a: k.A.: keine Angabe

^b: +: positives Ergebnis;
(+), schwach positives Ergebnis,
- negatives Ergebnis

Tabelle 2: Gentoxizität in vivo

Test	Organismus	Dosis	Ergebnis ^a	Bemerkungen	Literatur
Mikrokerntest	Maus (Swiss, m, 3/Gruppe)	100, 200, 400, 800 mg/kg KG, i.p.	+	keine Positivkontrolle	Misra & Misra (1986)
Fellfleckentest	Maus (C57BL/6JHan x T), 3 Gruppen mit 43, 92 bzw. 157 Nachkommen/Gruppe	79,6 mg/kg KG, i.p.	+	1-3 Tiere mit Fellflecken/Gruppe	Fahrig (1977)
Sex-chromosome loss	Drosophila melanogaster, m	0,2; 0,3 % im Futter	(+)	Signifikanter Anstieg des Chromosomenverlustes nur bei 0,3%	Alba et al. (1983)
Geschlechtsgebundener Rezessivletal-Test	Drosophila melanogaster, m	0,2; 0,3; 0,5% im Futter	(+)	bei 0,5% schwach positiv (signifikant auf 5%-Niveau)	Alba et al. (1983)
Geschlechtsgebundener Rezessivletal-Test	Drosophila melanogaster	0,1% im Futter	+	0,63% Letale	Clark (1953)
Spezifischer Lokus-Test	Drosophila melanogaster	26,5; 53; 132,5 µg/l oral	(+)	bei 500 µmol/l schwach positiv; keine Dosis-Wirkungsbeziehung	Xamena et al. (1984)
Spezifischer Lokus-Test	Seidenraupe (Bombyx mori)	500 µg parenteral	+	Mutagenität in paternalen Chromosomen	Murakami (1973)
Host-mediated assay	Maus (Swiss-Webster, m) Salmonella typhimurium TA1538, Saccharomyces cerevisiae D3	495 mg/kg	-		Simmon et al. (1979)
DNA-Synthese-Hemmung (Friedman-Staub-Assay)	Maus (i.p. oder oral, m), testikuläre Zellen	200 mg/kg i.p	+		Seiler (1977)

^a: +: positives Ergebnis;
 (+), schwach positives Ergebnis,
 - negatives Ergebnis

Fazit

Aufgrund des positiven Ergebnisses im Mikrokerntests, der als eingeschränkt valide einzustufen ist, und des sehr schwach positiven Ergebnisses Fellfleckentest ist eine schwachen mutagenen Wirkung von Acridinorange und Acridinorange Zinkchlorid Doppelsalz in vivo auszugehen. Ein Erreichen und eine Schädigung der Keimbahn ist durch die vorliegenden Daten nicht belegt. Daher wird bezüglich der Mutagenität eine Einstufung als mutagen Kategorie 3 (M: 3) vorgeschlagen.

3. Kanzerogenität

Dermale Applikation

Es liegt nur eine ältere Studie zur dermalen Applikation von AO vor (van Duuren et al., 1969), die hinsichtlich Versuchsdesign (zu geringe Tierzahlen, nicht ausreichender (histo-)pathologischer Untersuchungsumfang) nicht den heutigen Kriterien an eine valide Kanzerogenitätsstudie entspricht. Darüber hinaus ist die Studie sehr schlecht dokumentiert.

Acridinorange (0,85 mg in 0,1 ml Aceton) wurde dreimal wöchentlich bis zu 455 Tage lang auf die Haut von 20 weiblichen ICR/Ha Swiss-Mäusen aufgetragen. Histologisch wurde nur die Leber untersucht. Es wurden keine Hauttumore beobachtet; bei 3/20 Acridinorange behandelten Mäusen traten aber Tumore in der Leber auf. In der Aceton-behandelten (40 Tiere) sowie der unbehandelten (100 Tiere) Kontrollgruppe wurden keine Hauttumoren gefunden (van Duuren et al., 1969). Aus der Dokumentation der Studie ist nicht ersichtlich, ob die Kontrollgruppe und die Aceton-behandelte Gruppe auch auf Lebertumoren untersucht wurden.

Tabelle 3: Dermale Applikation von AO an weiblichen ICR/Ha Swiss-Mäusen

Substanz	Tierzahl	Anzahl der Tiere mit Haut-		Testdauer	mittlere Überlebensdauer
		Papillomen	Karzinomen		
AO*	20	0	0	455	> 455
Aceton	40	0	0	470	> 470
-	100	0	0	526	469

*1 Hepatom, 1 Hämangiosarkom der Leber, 1 retikuläres Zellsarkom in Leber, Milz, Thymus und Lymphknoten

Initiations-Promotionsuntersuchungen:

Eine Gruppe mit 40 weiblichen ICR/Ha Swiss-Mäusen erhielt eine einmalige Applikation von 0,85 mg AO in 0,1 ml Aceton als Initiator und nach 14 Tagen dreimal wöchentlich 25 µg Phorbolmyristylacetat (PMA) in 0,1 ml Aceton. Die Kontrollgruppe bestehend aus 20 weiblichen ICR/Ha Mäusen wurde ebenfalls mit AO behandelt und erhielt anschließend nur 0,1 ml Aceton. Bei den behandelten Tieren wurden bei 3/40 Tieren Papillome der Haut beobachtet. In der PMA-behandelten Gruppe traten bei 4/20 Tieren Papillome und in der Kontrollgruppe traten keine Hauttumoren auf (van Duuren et al., 1969).

Tabelle 4: Initiationsversuche an der weiblichen ICR/Ha Swiss-Maus (van Duuren et al., 1969)

Initiator	Promotor	Tierzahl	Anzahl der Tiere mit Haut-		Auftreten des ersten Papiloms	Test-dauer	mittlere Überlebens-dauer
			Papillomen	Karzinomen			
AO	PMA	40	3	0	318	473	467
AO	Aceton	20	0	0	-	504	>504
-	PMA	20	4	0	118	367	367

Zur Untersuchung der Tumor-promovierenden Eigenschaften wurden 20 weiblichen ICR/Ha Swiss-Mäusen eine Einzeldosis von 150 µg 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) in 0,1 ml Aceton dermal verabreicht. Nach 14 Tagen wurde dreimal wöchentlich Acridinorange (0,85 mg in 0,1 ml Aceton) appliziert. Es traten 6 Papillome sowie 6 Karzinome der Haut auf, allerdings erst nach 322 Tagen. In der Kontrollgruppe (20 Tiere), die DMBA und anschließend nur Aceton erhielt, wurden 3 Papillome berichtet. In einer Positivkontrollgruppe, bestehend aus 20 Tieren, denen DMBA und anschließend dreimal wöchentlich Phorbolmyristylacetat (25 µg/0,1 ml Aceton) verabreicht wurde, zeigten 13 Tiere Papillome und 5 Tiere Karzinome der Haut (van Duuren et al., 1969).

Tabelle 5: Promotionsversuche an der weiblichen ICR/Ha Swiss-Maus (van Duuren et al., 1969)

Initiator	Promotor	Tierzahl	Anzahl der Tiere mit Haut-		Auftreten des ersten Papiloms	Test-dauer	mittlere Überlebens-dauer
			Papillomen	Karzinomen			
DMBA	AO	20	6	6	322	454	415
DMBA	PMA	20	13	5	52	449	331
DMBA	Aceton	20	3	0	442	470	410

Parenterale Administration

Eine Gruppe von 30 weiblichen ICR/Ha Mäusen erhielt wöchentliche s.c.-Injektionen mit 0,26 mg AO in 0,1 ml Tricaprylin. Eine Kontrollgruppe mit 100 Mäusen blieb unbehandelt; eine weitere Gruppe mit 30 Mäusen erhielt das Vehikel. Bei den mit AO behandelten Mäusen trat an der Injektionsstelle ein Fibrosarkom sowie ein Lymphom auf. Aufgrund des schlechten Zustandes der AO-behandelten Tiere und schwerer Läsionen und Narbengewebe an der Applikationsstelle wurde die Behandlung dieser Gruppe nach 442 Tagen abgebrochen. Die Kontrolltiere zeigten keine lokalen Tumore (van Duuren et al., 1969).

Von 20 weiblichen Ratten (Sprague-Dawley), denen wöchentlich 0,5 mg AO in 0,1 ml Tricaprylin s.c. injiziert wurde, zeigte nach 550 Tagen ein Tier ein retikuläres Zellsarkom an der Injektionsstelle. 20 Ratten, die mit Tricaprylin behandelt wurden, sowie 30 unbehandelte Ratten zeigten keine lokalen Tumoren (van Duuren et al., 1969).

Eine einmalige i.p.-Verabreichung einer wässrigen Lösung von 45 mg/kg KG AO an männliche und weibliche Mäuse (Swiss/NIH) und anschließende (nach 4 Tagen) Applikation von Crotonöl (5% in Paraffin) 2x/Woche, 20 Wochen lang ergab keine Hauttumoren bei den 15 überlebenden Tieren (Trainin et al., 1964).

3.3. Fazit

Die Ergebnisse der Initiations-Promotionsuntersuchungen zeigen keine Hinweise auf eine initiierende Wirkung von AO. Die erhöhten Inzidenzen an Hautpapillomen und –karzinomen in den Promotionsuntersuchungen weisen auf eine mögliche promovierende Eigenschaft von AO nach dermalen Applikation hin.

Die vorliegenden Untersuchungen zur Kanzerogenität entsprechen nicht den gültigen Anforderungen an Kanzerogenitätsstudien hinsichtlich Tierzahlen, Untersuchungsumfang und Dokumentation. Aufgrund der fraglichen Validität und Aussagefähigkeit der Studien werden sie daher als nicht geeignet angesehen, für eine Einstufung herangezogen zu werden. Es wird daher keine Einstufung von AO als krebserzeugend vorgeschlagen (C: -).

4. Reproduktionstoxizität

Es liegen keine Untersuchungen zur Reproduktionstoxizität von AO vor. Es kann daher kein Einstufungsvorschlag erfolgen.

Literatur

- [1] Agrelo CE & Severn BJ (1981) A simplified method for measuring scheduled and unscheduled DNA synthesis in human fibroblasts. *Toxicology* 21: 151-158
- [2] Alba P, Ferrés MD, Xamena N, Creus A & Marcos R (1983) Genotoxicity of acridine orange and acriflavine in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research* 121: 199-203
- [3] Allison AC & Paton GR (1965) Chromosome damage in human diploid cells following activation of lysosomal enzymes. *Nature* 207: 1170-1173
- [4] Au W & Hsu TC (1979) Studies on the clastogenic effects of biologic stains and dyes. *Environmental Mutagenesis* 1:27-35
- [5] Clark AM (1953) The mutagenic activity of dyes in *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist* 87: 295-305
- [6] Crossen PE (1979) The effect of acridine compounds on sister-chromatid exchange formation in cultured human lymphocytes. *Mutation Research* 68: 295-299
- [7] Curtain CC & Edgar JA (1976) The binding of dehydroheliotridine to DNA and the effect of it and other compounds on repair synthesis in main and satellite band DNA. *Chemico-Biological Interactions* 13: 243-256
- [8] Davies PJ, Evans WE & Parry JM (1975) Mitotic recombination induced by chemical and physical agents in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research* 29: 301-314
- [9] Donatsch P, Gurtler J & Matter BE (1982) Critical appraisal of the 'mouse testicular DNA-synthesis inhibition test' for the detection of mutagens and carcinogens. *Mutation Research* 92: 265-273

- [10] Fahrig R (1977) The mammalian spot test (Fellfleckentest) with mice. *Archives of Toxicology* 38: 87-98
- [11] Gasc AM & Sigard AM (1978) Genetic studies of Acridine-induced mutants in *Streptococcus pneumoniae*. *Genetics* 90: 1-18
- [12] Gray TC (1971) Acridine- and ICR-induced mutagenesis in the *amiA* locus of *Diplococcus pneumoniae*. *Bakteriol Proc* 65 (Abstract)
- [13] Hass BS & Webb RB (1978) Photodynamic effects of dyes on bacteria: I. Mutagenesis by acridine orange in the dark in excision- and recombination-deficient strains of *Escherichia coli*. *Mutation Research* 51: 279-284
- [14] Heil J & Reifferscheid G (1992) Detection of mammalian carcinogens with an immunological DNA synthesis-inhibition test. *Carcinogenesis* 13(12): 2389-2394
- [15] Higuchi M, Araya S & Higuchi M (1976) Plasmid DNA satellite bands seen in lysates of *Streptococcus mutans* that form insoluble extracellular polysaccharides. *Journal of Dental Research* 55(2): 266-271
- [16] Kubinski H, Gutzke GE & Kubinski ZO (1981) DNA-cell-binding (DCB) assay for suspected carcinogens and mutagens. *Mutation Research* 89: 95-136
- [17] MacNaughton AW & Winder FG (1977) Increased DNA polymerase and ATP-dependent deoxyribonuclease activities following DNA damage in *Mycobacterium smegmatis*. *Molecular and General Genetics* 150: 301-308
- [18] Mamber SW, Okasinski WG, Pinter CD & Tunac JB (1986) The *Escherichia coli* K-12 SOS chromotest agar spot test for simple rapid detection of genotoxic agents. *Mutation Research* 171: 83-90
- [19] Meneghini R (1974) Repair replication of opossum lymphocyte DNA: Effect of compounds that bind to DNA. *Chemico-Biological Interactions* 8: 113-126
- [20] Misra RN & Misra B (1986) Genetic toxicological testing of some dyes by the micronucleus test. *Mutation Research* 170: 75-78
- [21] Mitchell I. De G. (1974) A comparison of the sensitivity and specificity of microbial systems for assessing genetic damage. *Agents and Actions* 4(4): 286-294
- [22] Murakami A (1973) Mutagenesis of acridine orange in mitotic cleavage nuclei of the silkworm, *Bombyx mori*. *Mutation Research* 20: 67-70
- [23] Nakamura S, Oda Y, Shimada T, Oki I & Sugimoto K (1987) SOS-inducing activity of chemical carcinogens and mutagens in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002: examination with 151 chemicals. *Mutation Research* 192: 239-246
- [24] Oberly TJ, Bewsey BJ & Probst GS (1984) An evaluation of the L5178Y TK⁺ mouse lymphoma forward mutation assay using 42 chemicals. *Mutation Research* 125:291-306
- [25] Orgel A & Brenner S (1961) Mutagenesis of the bacteriophage T4 by acridines. *Journal of Molecular Biology* 3: 762-768
- [26] Popescu NC, Turnbull D & DiPaolo JA (1977) *Journal of the National Cancer Institute* 59(1): 289-293
- [27] Probst et al. (1981) *Environmental Mutagenesis* 3: 11-32

- [28] Richardson CL & Schulman GE (1981) Competitive binding studies of compounds that interact with DNA utilizing fluorescence polarization. *Biochimica et Biophysica Acta* 652: 55-63
- [29] Rosenkranz HS & Poirier LA (1979) Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. *Journal of the National Cancer Institute* 62(4): 873-891
- [30] Roth JR (1974) Frameshift mutations. *Annu Rev Genet* 8: 319-346
- [31] Seiler JP (1977) Inhibition of testicular DNA synthesis by chemical mutagens and carcinogens. Preliminary results in the validation of a novel short term test. *Mutation Research* 46: 305-310
- [32] Simmon VF Rosenkranz HS, Zeiger E & Poirier LA (1979) Mutagenic activity of chemical carcinogens and related compounds in the intraperitoneal host-mediated assay. *Journal of the National Cancer Institute* 62(4): 911-918
- [33] Singh RN & Dikshit RP (1976) Mutagenesis of the blue-green alga, *Anabaena doliolum* Bharadwaja. *Mutation Research* 35: 65-78
- [34] Trainin N, Kaye AM & Berenblum I (1964) Influence of mutagens on the initiation of skin carcinogens. *Biochemical Pharmacology* 13: 263-267
- [35] van Duuren BL, Sivak A, Katz C & Melchionne S. (1969) Tumorigenicity of acridine orange. *British Journal of Cancer* 23(3): 587-590
- [36] Walle AJ & Wong GY (1989) Binding of acridine orange to DNA in situ of cells from patients with acute leukemia. *Cancer Research* 49: 3692-3695
- [37] Xamena N, Creus A & Marcos R (1984) Mutagenic activity of some intercalating compounds in the *Drosophila zeste* somatic eye mutation test. *Mutation Research* 138: 169-173
- [38] Yamaoka K (1972) Effect of chemical structures of acridine and triphenylmethane dyes on the induced optical activity of DNA-dye complexes. *Biopolymers* 11: 2537-2561

Stand: Oktober 2002