

Kas Gevşetici İlaç Cabral®(Feniramidol)'ın Mutajenik Etkisinin Ames Salmonella/Mikrozom Test Yöntemi İle Araştırılması

Mehmet ARSLAN*

Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, 75000, Ardahan, Türkiye

Geliş tarihi/Received 17.01.2016

Düzeltilerek geliş tarihi/Received in revised form 08.04.2016

Kabul tarihi/Accepted 20.04.2016

Öz

Günümüzde yaygın olarak kullanılan feniramidol (Cabral®) kas gevşetici etki gösteren analjezik bir ilaçtır. Bu çalışmada amaç feniramidol'ün potansiyel mutajenik etkisinin Ames Salmonella/Mikrozom test sistemi ile saptanmasıdır. Bu amaçla mutajenik etkiyi belirlemek için feniramidol'ün ticari formu olan Cabral®'ın 5 farklı dozu (0.1-1000 µg/plak) Salmonella typhimurium'un TA98 ve TA100 suşları ile muamele edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre feniramidol'ün denenen hiçbir dozu TA98 ve TA100 suşlarında mutajenik etki göstermemiştir.

Anahtar kelimeler: Ames Salmonella/Mikrozom testi, Cabral®, Feniramidol, Mutajen

Investigation of Mutagenic Effects of Muscle Relaxant Drugs Cabral® (Pheniramidol) by Ames Salmonella/Microsome Test System

Abstract

The aim of this study was to determine the possible mutagenic effects of the commercial formulation of pheniramidol (Cabral®) that is extensively used as analgesic muscle relaxant. Ames Salmonella/Microsome test systems were used to determine the mutagenicity of Cabral® using TA98 and TA100 strains of Salmonella typhimurium. Strains were treated with 5 different doses (0.1-1000 µg / plate) of Cabral®. It was shown that pheniramidol was not mutagenic to TA98 and TA100 strains of Salmonella typhimurium.

Keywords: Ames Salmonella/Mikrosome test, Cabral®, Pheniramidol, Mutagen

1. Giriş

İnsan popülasyonunun çevredeki kanserojen ve mutajen maddelerin etkisinden korunması için bu özelliğe sahip bileşiklerin tespit edilmesi ve etkilerinin değerlendirilmesi önemlidir (Maron ve Ames, 1983; Debnath vd., 1991).

Mutajenlere maruz kalmanın çeşitli yolları vardır. Bunlardan en önemlisi beslenme

zinciri olmakla birlikte sudaki ve havadaki kirleticilerle etkileşim, saç boyaları gibi kozmetik bileşikler ile terapötik ilaçlar gibi yapay kimyasalların kullanılması da mutajenlerle temasta önemlidir (Bökesoy vd., 2000).

Bu kimyasalların önemli bir grubunu hastalıklara karşı kullanıma sunulan ilaçlar oluşturmaktadır. Hedef hastalığın tedavisinde kullanılan ideal bir ilacın en önemli özelliği,

* Mehmet ARSLAN, mehmetarslan@ardahan.edu.tr, Tel: (0478) 211 26 87, Faks: (0478) 211 29 73

yan etkisinin minimum düzeyde olmasıdır. Buna göre kullanıma sunulacak olan ilacın toksikolojik, özellikle de bireyin kendisini ya da bir sonraki neslini önemli düzeyde etkileyecek olan genotoksikolojik potansiyeli, uygun bir şekilde sınanmalıdır.

Mutajenite testlerinden en yaygını 1970'lerin başında Bruce Ames ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen Ames testidir. Bu test *Salmonella typhimurium*'un his mutasyonunun revertantları kullanılarak yapılır (Synder ve Champness, 2007).

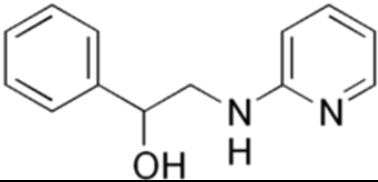
Ames testi birçok kimyasalın mutajenik etkisinin tespitinde kullanılmıştır (Kayraldız vd., 2006; Boyacıoğlu vd., 2007; Kutlu vd., 2011). Bu çalışmada da Cabral'ın farklı konsantrasyonlarının olası mutajenik etkilerini belirlemek üzere Ames Salmonella/Mikrozom testi kullanılmıştır.

Araştırma konusu Cabral®, etken maddesi feniramidol (IUPAC adı: S1-phenyl-2-(pyridin-2-ylamino) ethanol ve CAS no: 553-

69-5) olan, benzil alkol türevi santral etkili kas gevşetici bir ajandır (Tablo 1). Klinik olarak ilk defa 1960 yılında kullanılmaya başlanmıştır (O'Dell vd., 1960). C₁₃H₁₄N₂O kimyasal formülüne sahiptir ve günlük olarak oral veya kas içine (*i.m.*) 400-800-3200 mg/gün dozlarında kullanılmaktadır (Iglöe, 1963). Feniramidol karaciğerde glukuronik asit ile konjuge olur ve feniramidol glukuronit şeklinde idrar yoluyla atılır. İlacın bir kısmı ise safraya karışarak dışkı ile atılır (Köksal vd., 2003).

Üretici firmalar bir ilacı satışa sunmadan önce mutlak surette yasalarla belirlenmiş risk analizi testlerini yapmakla yükümlüdürler. Ancak Cabral® insanlar tarafından kullanıldığı halde mutajenik etkisinin tarafsız değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu ve benzeri çalışmalardan elde edilecek bulguların, ilacın kullanımının sorgulanmasında ya da farklı etkilerinin ortaya çıkarılmasında yetkili mercilere hareket alanı kazandırması beklenmektedir.

Tablo 1. Feniramidol (Cabral®)'un kimyasal yapısı ve molekül ağırlığı

Kimyasal yapısı	Molekül ağırlığı
	214.263 g/mol

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada, test maddesi olarak feniramidolün ticari formu olan Cabral® (Recordati İlaç ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Mutajenik etkiyi belirlemek üzere mutant (oksotrofik) *Salmonella typhimurium* suşları (TA98 = Çerçeve kayması sonucu oluşturulmuş mutant) ve TA100= Nokta mutasyonu sonucu oluşturulmuş mutant)'nda geri mutasyon testi kullanıldı (Maron ve Ames, 1983). Çalışmada kullanılan TA98 ve TA100 mutant suşları, Prof. Dr. Gökhan Coral'dan (Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji

Bölümü) alındı. Test maddesi suda tam çözünmediği için dimetil sulfoksit (DMSO) çözücü olarak kullanıldı. Yukarıda belirtilen test sistemi, test maddesinin çeşitli konsantrasyonları ile muamele edildi ve sonuçlar kendi kontrolleriyle karşılaştırıldı. Çalışmada kullanılan test maddesinin doz tespiti Dean vd. (1985)'nin yöntemine göre saptandı ve sitotoksik olmayan 5 ayrı doz ile çalışıldı. Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddelerden nutrient broth, Sodyum azid (SA), sodyum klorür, agar Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından, diğer kimyasallardan DMSO, magnezyum sülfat, sitrikasit monohidrat, potasyum fosfat, sodyum

amonyum fosfat, D-Biyotin, L-Histidin-HCl, ampisilin trihidrat, sodyum hidroksit, kristal viyole, glukoz, 4-nitro-*o*-fenilendiamin (4-NPD) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, Amerika Birleşik Devletleri) firmasından alındı.

2.1. *Salmonella* Reversiyon Testi

Salmonella reversiyon testinde, test bileşiği ve bakteri suşu top agara karıştırıldı ve minimal glukoz agarlı plaklara döküldü. Plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edildi, bu süre sonunda plaklardaki his⁺ revertant bakteri kolonileri sayıldı. Bu yöntemde, histidin ve biotin eklenmiş 45°C'deki 2 mL'lik top agara, test suşu kültüründen 0.1 mL ve Cabral®'ın seçilen dozundan 0.1 mL eklendi ve düşük hızda 3 sn vortekslendi. Daha sonra oda sıcaklığındaki minimal glukoz agarlı plaklara yayıldı. Top agarın plağın bütün yüzeyine donmadan yayılmasını sağlamak için karıştırma, dökme ve yayma işlemlerinin tümü 20 saniyeden az bir sürede yapıldı. Her deneyde, her geri dönme özgülüklerini doğrulamak için pozitif kontrol olarak bu suşlar için bilinen mutajenler olan 4-NPD (TA98 için) ve SA (TA100 için) kullanıldı. Bakteriyi ve kullanılan çözücüyü içeren, fakat test edilen kimyasalı içermeyen negatif kontrol plakları, her suş için kendiliğinden geriye dönen bakteri sayısının saptanmasında kullanıldı. Test maddesinin beş farklı konsantrasyonu (0.1, 1, 10, 100 ve 1000 µg/plak), çözücü, pozitif ve negatif kontrol eşliğinde her bir kontrol grubundan ve konsantrasyon serisinden aynı anda 6 petri plağına ekim yapılarak test edildi.

2.2. İstatistiksel Analiz

Deney sonucunda Cabral®'ın etkisiyle geri dönen koloni sayıları saptandı. Kontrol plakları ile Cabral®'ın farklı konsantrasyonlarının denendiği plaklar arasında istatistiksel ayırım olup olmadığı tek yönlü varyans analizini (OneWay ANOVA) takiben Dunnett test metoduna göre araştırıldı. Gruplar arasındaki ayırım minimum $p < 0.05$ düzeyine göre anlamlandırıldı. $p < 0.001$, gruplar arasında ileri düzeyde istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir.

3. Bulgular

Salmonella reversiyon testinde bir maddeye mutajen denilebilmesi için histidin prototroflarının sayısının, kendiliğinden geriye dönen koloni sayısının en az iki katı olması gerekir. Bununla birlikte bu sayı kendiliğinden geri dönen koloni sayısının iki katından az olup, doza bağlı artış söz konusu olursa, bu durumda da bu maddeye mutajen denilebilmektedir (Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Çalışmamızda TA98 ve TA100 suşlarında Cabral®'ın denenen hiçbir konsantrasyonu reversiyon mutasyonlarını kontrol ve çözücü kontrole göre önemli seviyede etkilememiştir ($p > 0.05$) (Tablo 2). Kontrol ve çözücü kontrol ile benzer sayıda revertant koloni sayısı içeren Cabral® muameleli gruplarda pozitif kontrole göre revertant koloni sayısı düşüktür, bu da non-mutajenik kimyasallar için beklenen bir sonuçtur.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde, test edilen feniramidol'ün ticari formu Cabral®'ın denenen hiçbir dozu TA98 ve TA100 suşlarında mutajenik etki göstermemiştir.

Yaptığımız literatür taramasında Cabral® ve etken maddesi feniramidol ile ilgili bugüne kadar yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak başka kas gevşetici ilaçlarla yapılan çalışmalara vardır. Bunlardan bazıları şunlardır.

Diazepam, *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 geri mutasyon testlerinde metabolik aktivatör varlığında ve yokluğunda mutajenik etki göstermemiştir. Aynı ilaç *Saccharomyces cerevisiae*, geri mutasyon testinde ise sadece metabolik aktivatör olan S9 karışımı yokluğunda mutajenik etkiye sahip değildir (Balbi vd.,1980).

Benzodiazepinler ve benzodiazepin analoglarının çoğu *S. typhimurium*, *E. coli* ve *S. cerevisiae* geri mutasyon testlerinde S9 karışımı varlığında ve yokluğunda mutajenik

Tablo 2. Feniramidol (Cabral®)'un farklı konsantrasyonlarının *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları üzerinde mutajenik etkileri

Test Maddesi	Konsantrasyon (µg/ petri)	TA 98 (revertant koloni sayısı)	TA 100 (revertant koloni sayısı)
Kontrol		26.33 ± 2.82	137.50 ± 10.60
DMSO	100 µL	25.83 ± 1.49	144.20 ± 20.10
4-NPD	100	1968.00 ± 257.00 *	-
SA	10	-	1177.50 ± 81.80 *
Cabral®	0.1	36.17 ± 6.33	138.50 ± 7.25
Cabral®	1	19.33 ± 3.12	129.83 ± 7.31
Cabral®	10	24.67 ± 1.99	122.00 ± 9.65
Cabral®	100	27.00 ± 2.96	122.00 ± 7.58
Cabral®	1000	22.83 ± 3.64	113.00 ± 12.70

*: Aynı sütun içinde diğer tüm gruplara göre $p < 0.001$ düzeyinde istatistiksel ayırım bulunmaktadır. Revertant kolonilerin tespitinde her bir grup için toplam altı petri kutusunda sayım yapılmıştır.

etkiye sahip olmadıkları bildirilmiştir (Balbi vd.,1980; Staiano vd.,1984; Kier vd., 1986; Wakisaka vd.,1987; Stoyanov vd., 1987; Black vd., 1987; Yamakage vd., 1994; Chlopkiewicz vd., 2001; Brambilla vd., 2007).

Genito-üriner sistem için seçici olan dikkate değer bir düz kas gevşetici ilaç flavoksat HCl'nin *S. typhimurium* geri mutasyon testinde ve *B. subtilis* DNA tamir ve mikronükleus testlerinde mutajen etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir (Veronese ve Barzaghi, 1987).

Karahalil vd. (2005) açık kalp cerrahisi süresince kullanılan diazepamın kromozomal aberasyonu (KA) neden olmadığını saptamışlardır.

Cerrahi öncesi kas gevşetici olarak kullanılan rocuronium bromide'in genotoksik etkisi *Drosophila melanogaster*'de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırılmış ve rocuronium bromürün mutajenik ve / veya rekombinojenik etkilere sebep olmadığı bildirilmiştir (Koksal ve Gürbüz, 2015).

Tüm bu bulgular araştırma bulgularımızı destekler niteliktedir. Fakat bahsi geçen bu kas gevşetici ilaçların mutajenik etkiye sahip olduğunu gösteren araştırma bulguları da vardır. Bunlardan bazıları şunlardır.

Leal Garza vd. (1998) diazepamın mutajenik aktivitesini belirlemek amacıyla farelerin kemik iliği hücrelerinde kardeş kromatid değişimi (KKD) ve mikronükleus (MN) analizi yapmışlardır. Diazepam'ın fare kemik iliği hücrelerinde mutajenik ve genotoksik etkileri gözlenmiştir ve bu ilacın insan sağlığı için de bir risk faktörü olabileceği vurgulanmıştır.

In vitro diazepam etkisindeki fare oositlerinde mayoz bölünmede gecikme olduğu ve anöploid hücre sayısının arttığı bildirilmiştir (Yin vd., 1998).

Ibrulj ve Nefic (1999) diazepam'ın genotoksik etkilerini insan kan lenfositlerinden hazırlanan kültürlerde araştırmışlardır. Diazepam'ın lenfositlerin mitotik aktivitelerini azalttığını, sayısal kromozomal aberasyonlara (KA) (daha çok hipodiploidi) neden olduğunu ve sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Genel anestezide kas gevşetici olarak kullanılan Esmeron'un (rocuronium bromür) genotoksik etkisi *in vitro* insan periferik lenfositlerinde KKD, KA ve MN testleri ile araştırılmıştır (Zan vd., 2011). 24 ve 48 saatlik etki süreleri sonunda Esmeron KKD'yi uyarmamakta, proliferasyon indeksi (PI), mitotik indeksi (MI) ve nükleus bölünme indeksini düşürmemektedir. Fakat KA'yı ve mikronükleus oluşumunu uyarmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalardan anlaşılacağı üzere, anestetik ajanların Ames Salmonella/Mikrozom testinde genelde mutajenik olmadıkları fakat *in vivo* fare kemik iliğinde ve *in vitro* insan lenfositlerinde genotoksik etki gösterebildikleri görülmektedir. Bu sonuçlar anestetik ajanların substitüsyon veya frameshift mutasyon oluşturmalarından ziyade mitoz bölünmede hasarlara veya kromozomal anormalliklere sebep olabildiklerini göstermektedir. Dolayısıyla Ames Salmonella/Mikrozom test yöntemi kullanılarak anestetik maddelerin mutajenik etkileri hakkında elde edilen bilgiler bizim bu çalışmadan elde ettiğimiz bilgilerle tam bir uyum içindedir.

Bizim elde ettiğimiz ve daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar aynı test maddesinin farklı test sistemlerinde farklı sonuçlar verebildiğini göstermektedir. Bundan dolayı insanlar tarafından kullanılan her kas gevşetici ilacın yan etkilerinin uygun testlerle araştırılması ve birkaç kez doğrulanması gereklidir. Çünkü bir test maddesinin genotoksik etkiye sahip olup olmadığının yüksek güvenilirlikle saptanabilmesi için Ames Salmonella/Mikrozom test sistemi gibi bakteriyel mutajenite testlerinin kullanılması yanında *in vivo* hayvan kemik iliği ve *in vitro* insan lenfositleri gibi test sistemlerinin tümünün de kullanılması ve sonuçlarının beraber yorumlanması gerekir. Bizim yaptığımız bu çalışma bu test bataryasının ilk çalışması olması dolayısıyla önemlidir.

Bu çalışmada Ames Salmonella/Mikrozom testinin ve TA98-TA100 suşlarının seçilmesinin nedeni, ilaçların mutajenik etkilerinin araştırılmasında çok yaygın olarak

kullanılması, test parametreleri açısından en iyi standardize edilmiş ve mutajen/karsinojen etkisi en iyi bilinen kimyasallarla geçerliliği ispatlanmış bakteriyel test sistemlerinden biri olmasından kaynaklıdır. Ayrıca testin, diğer testlere göre çok hızlı sonuç vermesi, ucuz ve uygulanabilirliğinin kolay olması nedeniyle bu test sistemi seçilmiştir.

Yaptığımız çalışma sonucunda kas gevşetici ilaç Cabral®'in Ames Salmonella/Mikrozom test sisteminde mutajen olmadığı tespit edilmiştir. Ancak başka test sistemleri ile daha ileri araştırmaların yapılması hem sağlığımız hem de gelecek nesillerin sağlığı açısından son derece önemlidir.

5. Kaynaklar

- Balbi, A., Muscettola, G., Staiano, N., Martire, G. ve De Lorenzo, F., 1980. Psychotropic drugs: evaluation of mutagenic effect, Pharmacological Research Communications, 12, 423-431.
- Black, H., Szot, R., Arthaud, L., Massa, T., Mylecraine, L., Klein, M., et al., 1987. Preclinical safety evaluation of the benzodiazepine quazepam, Arzneimittel-Forschung/Drug Research, 37, 8 906-913.
- Boyacıoğlu, M., Arslan, Ç.Ö., Parlak, H. ve Karaaslan, M., 2007. Mutagenicity of Nonylphenol and Octylphenol Using Salmonella Mutation Assay, E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 24, 3-4, 299-302.
- Bökesoy, T. A., Çakıcı, İ. ve Melli, M., 2000, Genel Farmakoloji ve Toksikoloji, Gazi Kitabevi, Ankara, 86-101s.
- Brambillaa, G., Carrozzinob, R. ve Martellia, A., 2007. Genotoxicity and carcinogenicity studies of benzodiazepines, Pharmacological Research, 56, 6, 443-458.
- Chlopkiewicz, B., Ejchart, A. ve Anuszevska, E., 2001. Tofisopam—evaluation of

- mutagenic and genotoxic properties, Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 58, 31-34.
- Dean, B., Brooks, T., Hodson-Walker, G. ve Hutson, D., 1985. Genetic toxicology testing of 41 Industrial chemicals, Mutation Research, 153, 57-77.
- Debnath, A., Compadre, R., Debnath, G., Shusterman, A. ve Hansch, G., 1991. Strure-Activity Relationship of Mutagenic Aromatic and Heteroaromatic Nitro Compounds Correletion Molecular with Orbital Energies and Hydrophobicity, Journal of Medicinal Chemistry, 34, 2, 786-797.
- Ibrulj, S. ve Nefic, H., 1999. Diazepam induced chromosome aberrations in human lymphocytes *in vitro*, Medicinski arhiv, 53, 1, 3-5.
- Igloe, M.C., 1963. The use of injectable phenyramidol in musculoskeletal disorders, Industrial Medicine & Surgery, 32, 242-247.
- Karahalil, B., Yağar, S., Bahadır, G., Durak, P. ve Sardaş, S., 2005. Diazepam and propofol used as anesthetics during open-heart surgery do not cause chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes, Mutation Research, 581, 1-2, 181-186.
- Kayraldız, A., Kaya, F. F., Canınoğlu, S. ve Rencüzoğulları, E., 2006. Mutagenicity of five food additives in Ames/Salmonella/Microsome test, Annals of Microbiology, 56, 2, 129-133.
- Kier, L., Brusick, D., Auletta, A., Halle, E.V., Brown, M., Simmon, V., et al., 1986. The *Salmonella typhimurium*/mammalian microsomal assay. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program, Mutation Research, 168, 2, 69-240.
- Köksal, A., Köklü, S., Filik, L., Şaşmaz, N. ve Şahin, B., 2003. Phenyramidol-Associated Liver Toxicity, Annals of Pharmacotherapy, 37, 1244-1246.
- Köksal, P.M. ve Gürbüz, M., 2015. Analysis of genotoxic activity of ketamine and rocuronium bromide using the somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, Environmental Toxicology and Pharmacology, 39(2): 628-634.
- Kutlu, M., Öztaş, E., Aydoğan, G., Işıkdag, İ. ve Özkay, Y., 2011. Bazı 9-Süstitüe Fenantren Türevlerinin Mutajenik Aktivitelerinin Ames/Salmonella/Mikrozom Testi İle Araştırılması, Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji, 1,1, 83-94.
- Leal, C.G., Valencian, G., Rojas, M. ve Cortes, E.G., 1998. Mutagenic activity of diazepam evaluated by *in vivo* cytogenetic tests, Archives of Medical Research, 29, 4, 285-289.
- Maron, D. ve Ames, B., 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, Mutation Research, 113, 173-215.
- Mortelmans K. ve Zeiger, E.E., 2000. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay, Mutation Research, 455, 1-2, 29-60.
- O'Dell, T., Wilson, L., Napoli, M., White, H. ve Mirsky, J.H., 1960. Pharmacology of a series of new 2-substituted pyridine derivatives with emphasis on their analgesic and interneuronal blocking properties, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 28, 65-74.
- Staiano, M. N., Belisario, R., Morte, C.D., Farina, P. ve Rimondelli, G., 1984. Muscettola Mutagenic effects of flunitrazepam, Bollettino della Societa

- Italiana di Biologia Sperimentale, 60, 2247-2253.
- Stoyanov, I., Nikolov, I., Chernozemskii, I. ve Stoichev, I., 1987. Assessment for mutagenicity of 10 pharmaceutical products following Ames, micronucleus, and sperm morphology testing, Toxicity Assessment, 2, 2, 207-215.
- Synder, L. ve Champness, W., 2007. Third Edition Moleküler Genetics of Bacteria, Department of Microbiology and Molecular Genetics, Michigan State University East Lansing, Michigan Washington, DC, 492.
- Veronese, M. ve Barzaghi, D., 1987. Experimental studies *in vitro* and *in vivo* on the mutagenicity of flavoxate, Arzneimittel-Forschung, 37, 5, 528-531.
- Wakisaka, Y. ve Nishimoto, Y., 1987. Mutagenicity study on a new sleep inducer, a 1H-1,2,4-triazolylbenzophenone derivative (450191-S), and its metabolite in bacteria. Iyakuin Kenkyu, 18, 12-20.
- Yamakage, K., Katoh, M., Sakamoto, K., Sasaki, K., Hashimoto, K., Ishihara, N., et al., 1984. Mutagenicity tests of clobazam, Iyakuin Kenkyu, 25, 874-885.
- Yin, H., Baart, E., Betzendahl, I. ve Eichenlaub-Ritter, U., 1998. Diazepam induce meiotic delay, aneuploidy and predivision of homologues and chromatids in mammalian oocytes, Mutagenesis, 13, 6, 567-580.
- Zan, U., Topaktas, M. ve Istifli, E. S., 2011. Document *in vitro* genotoxicity of rocuronium bromide in human peripheral lymphocytes, Cytotechnology, 63, 239-245.