

亞硝化藥物之基因毒力

GENOTOXICITY OF NITROSATED DRUGS

林 仁 混

JEN-KUN LIN

國立臺灣大學醫學院生化學研究所

Institute of Biochemistry, College of Medicine, National Taiwan University

一、前 言

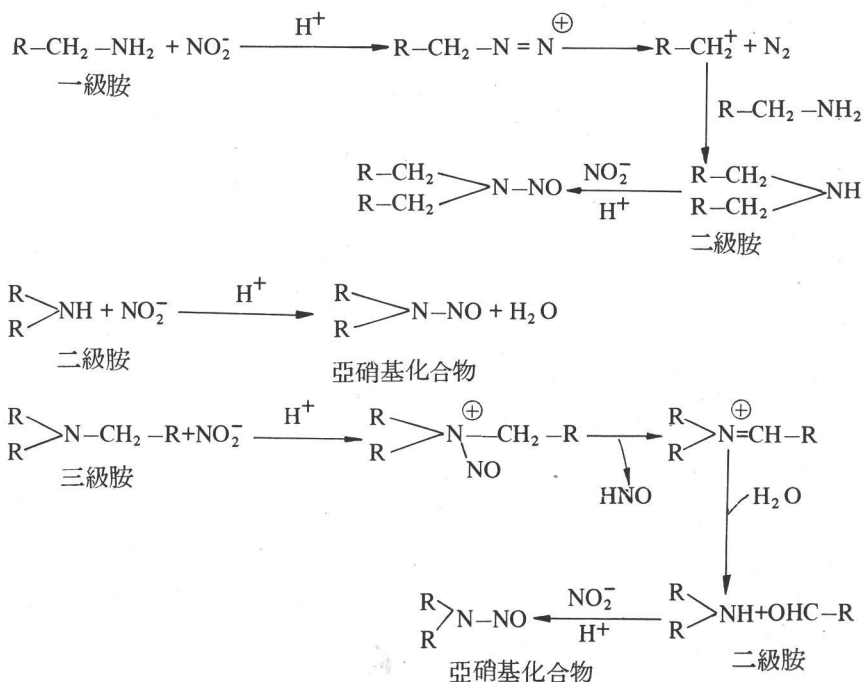
有些藥物長期使用的結果會引起慢性中毒 (Chronic intoxication) 包括致突變作用 (Mutagenicity), 致癌作用 (Carcinogenicity) 及致畸型作用 (Teratogenicity)。這些細胞特性的改變, 其分子機制通常可追溯到基因構造與功能之改變。在毒物學的討論裡就把這種慢性毒作用稱為基因毒力。有些藥物本身可直接表現其基因毒力如一些抗癌藥物 Cyclophosphamide, Actinomycin D, Adriamycin 等; 另有些藥物要經過亞硝化 (Nitrosation) 之後產生新的衍生物, 才能表現其

基因毒力, 如 Aminopyrine, Oxytetracycline, Chlorpromazine 等。

在人類攝取的蔬菜中含有相當多的硝酸鹽。據報告腸胃管中的微生物可把硝酸鹽還原為亞硝酸鹽。如此一來, 長期大量攝取胺類藥物的結果, 可能在生體中進行亞硝化作用而產生具有基因毒力的衍生物¹。本報告將針對此一問題加於敘述分析。

二、具有亞硝化潛力之藥物

最近幾年, 有關藥物之亞硝化研究相當多。凡是一級胺, 二級胺及三級胺類的藥物都有被亞硝化之可能, 其原理以下列反應式說明之:



亞硝化藥物之基因毒力

表一 胺類藥物與亞硝酸之反應
Table 1. Reaction of Amine Drugs with Nitrous Acid

Drug	Use	Nitrosamine
Aminopyrine	Analgesic	DMN
Chlorpheniramine	Antihistamine	DMN
Chlorpromazine	Tranquilizer	DMN
Cyclizine	Motion sickness	DMN
Dextropropoxyphene	Tranquilizer	DMN
Disulfiram	Antialcoholic	DMN
Hexahydroazepinylnitropropiphenone	Antihistamine	Nitrosohexamethyleneimine
Lucanthone	Antischistosomiasis	DEN
Methadone	Narcotic	DMN
Methapyrilene	Antihistamine	DMN
Nikethamide	Stimulant	DMN
Oxytetracycline	Antibiotic	DMN
Quinacrine	Antimalarial	DEN
Tolazamide	Hypoglycemic	Nitrosohexamethyleneimine

Data cited from Lijinsky (3).

DMN, N,N-dimethylnitrosamine; DEN, N,N-diethylnitrosamine.

由以上反應看來，可知一級胺及三級胺經過亞硝酸鹽 (NO_2^-) 之作用可先變為二級胺，最後再反應變成亞硝基化合物。

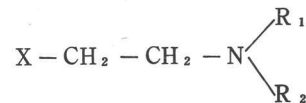
從文獻上可以看出有關亞硝化作用，二級胺與三級胺藥物被研究得較多。Lijinsky 與 Taylor (1976) 發現 Phenmetrazine 在兔子與老鼠體中可與亞硝酸鹽反應產生 N-nitrosophenmetrazine; Morpholine 可形成 N-nitrosomorpholine 及 Piperazine 可與亞硝酸鹽反應形成兩種亞硝基衍生物：Mono- 與 di-nitroso-piperazine²。Lijinsky 在 1974 年也發表有關一系列的三級胺藥物與亞硝酸鹽作用後可產生致癌性的亞硝胺 (Nitrosamines)，包括二甲基亞硝胺 (N,N-dimethyl nitrosamine, DMN) 與二乙基亞硝胺 (N,N-diethyl nitrosamine, DEN)³。表一列舉了這些被研究的藥物及其所產生之亞硝胺。由此可見，各部門的藥物只要是三級胺都可能與亞硝酸鹽反應而形成致癌性 DMN 或 DEN。值得一提者，表一所列的藥物如抗組織胺劑、鎮痛劑、降血糖劑等都是治療慢性病的藥，也是說要經常使用的藥，因此，其基因毒力值得研究。

除了表一所述的藥物之外，還有許多尚未研究的胺類藥物也可能與亞硝酸鹽反應而形成亞硝基化合物 (N-Nitroso Compounds)。

在交感神經藥物 (Sympathomimetic drugs

) 裡，Norepinephrine 為一級胺，epinephrine 為二級胺，還有很多藥物 (表二) 也屬於二級胺。

在抗組織胺類藥物裡，很多屬於三級胺而且有一般式：



表二 交感神經作用之藥物
Table 2. Sympathomimetic Drugs

Generic name	Trade name	Type of amine
Epinephrine	—	Secondary
Norepinephrine	—	Primary
Ephedrine	—	Secondary
Phenylephrine	Neo-Synephrine	Secondary
Methoxamine	Vasoxyl	Primary
Mephentermine	Wyamine	Secondary
Metaraminol	Atramine	Primary
Hydroxyamphetamine	—	Primary
Amphetamine	—	Primary
Phenylpropanolamine	Propadrine	Primary
Propylhexedrine	Benzedrex	Secondary
Cyclopentamine	Clopane	Secondary
Tuaminoheptane	Tuamine	Primary
Isopropylnorepinephrine	Isoproterenol	Secondary
Protokylol	Caytine	Secondary
Isoetharine	Dilabron	Secondary
Methoxyphenamine	Orthoxine	Secondary
Nylidrin	Arlidin	Secondary
Isoxsuprine	Vasodilan	Secondary
Phenylethylamine	—	Primary
Diethylpropion	Tepanil	Secondary
Phenmetrazine	Preludin	Secondary
Dopamine	—	Primary

其較常用者列於表三。這類藥物在酸性下可能與亞硝酸鹽反應而形成亞硝基化合物：

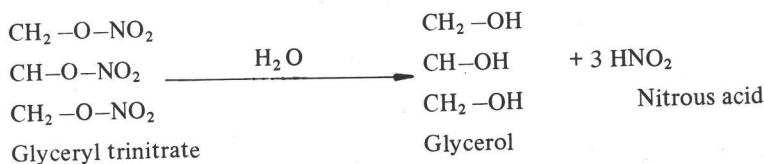


一些局部麻醉劑也是三級胺藥物如表四表示。
這些藥物對亞硝酸鹽之反應情形，尚無具體的研究。
其他一些利尿劑，安靜劑、鎮痛劑也有許多是屬於胺類化合物，不勝枚舉。

三、具有施放亞硝酸鹽潛力之藥物

冠狀動脈血管擴張劑 (Coronary Vasodilator) 是治療心絞痛 (Angina Pectoris) 的藥物，其中很重要的一類就是硝酸鹽的衍生物包括亞硝酸鹽 (Sodium Nitrite)，有機亞硝酸鹽 (Amyl Nitrite) 與有機硝酸鹽 (Glyceryl trinitrate, Pentaerythritol tetranitrate, Triethanolamine trinitrate diphosphate, Isosorbide dinitrate, 及 Erythrityl tetranitrate)。這些藥物因對冠狀動脈的血管肌肉有鬆弛作用，由此增加冠狀動脈的血流。

根據研究顯示，這些有機硝酸鹽經過代謝可放出亞硝酸鹽⁴：



因此使用此類藥物之病人，若再攝取上述之胺類化合物，在體中進行亞硝化作用之可能性值得進一步之研究。

四、製劑中產生亞硝胺

一些成藥製劑是由多種藥物配方而成；在各種藥物的配伍過程中也會有亞硝化反應發生。德國 Eisenbrand 等人發現在 68 種含有 Aminopyrine 之製劑中，都可以檢查到 10 ~ 371 ppb 的 DMN⁵。他們推想由於 Aminopyrine 含有 N, N-dimethyl-amino 基團可能與空氣中之 NO_x 反應。進一步的分析發現在市區的空氣中其 Nitric Oxide 及

表三 抗組織胺類藥物

Table 3. Antihistamine Drugs

Generic name	Trade name	Type of amine
Tripeleannamine	Pyribenzamine	Tertiary
Methapyrilene	Histadyl	Tertiary
Diphenhydramine	Benadryl	Tertiary
Chlorpheniramine	Chlor-Trimeton	Tertiary
Promethazine	Phenergan	Tertiary
Cyclizine	Marezine	Tertiary
Cyproheptadine	Periactin	Tertiary
Carbinoxamine	Clistin	Tertiary
Chlorothen	Tagathen	Tertiary
Phenindamine	Thephorin	Tertiary
Brompheniramine	Dimetane	Tertiary
Triprolidine	Actidil	Tertiary
Dimethindine	Forhistal	Tertiary
Pyrimamine	Neo-Anergan	Tertiary
Doxylamine	Decapryn	Tertiary
Chlorcyclizine	Di-Paralene	Tertiary

表四 局部麻醉劑

Table 4. Local Anesthetics

Generic name	Trade name	Type of amino group
Cocaine	—	Cyclic tertiary amino group
Ethylaminobenzoate	Benzocaine	Primary amino group
Procaine	Novocain	Diethylamino group
Lidocaine	Xylocaine	Diethylamino group
Tetracaine	Pontocaine	Dimethylamino group
Mepivacaine	Carbocaine	Cyclic tertiary amino group
Dibucaine	Nupercaine	Diethylamino group

Nitrogen dioxide 之含量可達到 1 ppm。因此，在錠劑表面的固態 Aminopyrine 可能與之反應而產生 DMN。

在液體的製劑中，也可能產生這些反應。Scheunig 等人⁶研究 30 種藥物在人類胃液中產生亞硝基化合物之情形，結果發現 Aminopyrine, Analgin 及 Piperazine 在胃液中可形成亞硝胺。

五、亞硝化藥物之基因毒力

亞硝基化合物之致癌能力首先被 Barnes 與 Magee 在 1954 年發現⁷。當時 DMN 在工廠裡被用作溶媒，長期接觸的結果，有些工人的肝臟

發生病變；後來證明 D M N 可在鼠體中引起肝癌⁸。在這些實驗裡，以低劑量（10, 20, 50 mg/kg diet）經長期（42 ~ 104 weeks）投與之後，老鼠產生肝癌；若以大劑量（100 ~ 200 mg/kg）只經短期（1 ~ 4 weeks）投與，老鼠會產生腎臟癌。據報告約 300 種亞硝基化合物，經動物實驗結果發現 85 % 之亞硝胺（試了 209 種）及 95 % 之亞硝醯胺（試了 86 種）可在實驗動物產生癌症。亞硝基化合物之致癌作用，是無所不至的。D E N 就被證明可在 20 種不同動物產生癌症⁹。到目前為止，可以說所有用來試驗的動物都可被亞硝基化合物誘發癌症，並無例外。因此學者認為人類也不能例外。

許多亞硝基化合物可在細菌細胞表現其致突變能力¹⁰。由 Ames 研究小組所推展的 *Salmonella typhimurium* - Microsome test¹¹。是常被利用測試化學藥品之致突變能力。原來的 Ames 法對有些亞硝基化合物致突變力之測試並不理想，但後來有人將其試驗條件加以修改，最重的是先將菌體與亞硝基化合物作一段時間之接觸，就可獲得良好之結果¹²。常用之 *Salmonella* tester strains 為 TA1535, TA1537, TA1538, TA98 及 TA100。其他的微生物如 *E. Coli* 及 *Yeast* 也可用來作致突變能力之鑑定¹³。

亞硝基化合物致突變力之測定有助於其致癌力之預測。但此兩者之關連隨測試系統而有所差異。Langenbach 等人¹⁴研究能引起田鼠胰臟癌之亞硝基化合物，發現下列四種化合物之致癌力強弱依序為：Nitrosomethyl-2-oxo-propylamine (MOP)，Nitroso-bis (2-oxo-propyl) amine (BOP)，Nitroso-2-oxopropyl-2-hydroxy-propylamine (HPOP) 及 Nitroso-bis - (2-hydroxypropyl) - amine (BHP)。這些亞硝基化合物若以 Ames 法來測試其致突變力，其強弱為 HPOP > BOP > MOP > BHP，可見與它們的致癌力並不平行。但若改用田鼠肺細胞 V79（與肝細胞一起培養）觀察其對 Ouabain resistance 之突變能力為 MOP > BOP > HPOP > BHP，顯然與它們之致癌力有平行之關係。此兩種方法之差別在於前者僅用 S9 去活化待測物質，而後者則利用整個肝細胞去活化。因而其活化能力有相當程度

之差異。最近又有人以 V79 系統測試了 27 種亞硝基化合物之致突變力，結果都與它們的致癌力有平行的關係。

六影響亞硝基化合物致突變力之因素

同一化合物在不同之測試系統所得之致突變力之效價不同。首先我們要考慮的是引起突變作用之分子基礎是建立在 DNA 之 Alkylation；更有進者，其 alkylation 之部位可能有好幾處。不同之亞硝基化合物在不同細胞的 DNA 引起 alkylation 的部位不同。例如用 Ames test 來測試，Nitrosomethylurea 對 *Salmonella* cell 之致突變力較 Nitrosoethylurea 為強；但在 *E. Coli* Cell (Trp A 58 Mutation) 測試時，此種順位就倒轉過來。其理由可能是兩種細菌的 DNA 構造不同而引起的。

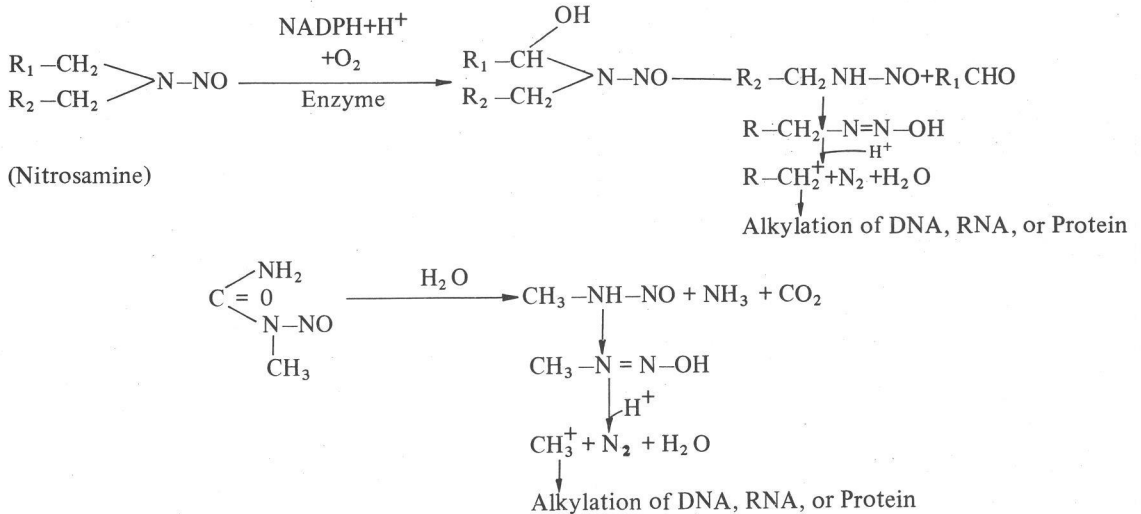
Lawley¹⁵ 指出 O⁴-thymine 與 O⁶-guanine Alkylation 之比值在 Nitrosomethylurea 與 Nitrosoethylurea 分別為 0.05 與 0.3。由此可知 Nitrosomethylurea 易於引起 G/C to A/T Mutation 而 Nitrosoethylurea 則擅於引起 A/T to G/C Mutation，在 Ames tester Strain 攜帶着 Histidine G46 Missense Codon (GGG/CCC)，此 Codon 只能由 G/C to A/T transition 才能轉回到野生種 (wild type) 之 codon (GTG/CAC)。因此 Nitrosomethylurea 較適合於引起此 codon 之 G/C to A/T transition。同理，*E. coli* W-2 Strain 攜帶着 TAA/ATT Ochre or Non-sense Codon，它可經由 A/T to G/C Shift 轉回到 Wild type，因此，Nitrosoethylurea 可促進此種 Shift。又 Trp A 58 Mutation (GAC) 也要發生 A/T to G/C Shift 而形成 Wild type codon GGC¹⁶。

另一方面，有此亞硝基化合物在致突變力之測試所得之 dose-response Curve 往往不是直線。在低濃度時，其致突變力較低，但在高濃度時，其致突變力又加速的增加，而呈現 Biphasic dose-response 的現象¹⁷。此種現象可能由於低濃度時所形成之 DNA - damage 容易加以修復 (Repair)，但在高濃度時，此種修復的能力已經無法應付，其突變力因而大為增加。

另一方面，一般亞硝基化合物之安定度較差，對空氣中的氧，水分以及光線都不穩定。在不同實驗室的標準品，其有效濃度可能有很大的出入，由是所得之致突變力也隨着不同。有些亞硝基化合物為液態油狀物，對其純度之判定相當不易。

七、亞硝化醯胺類藥物之研究

亞硝胺要先代謝活化才能表現出基因毒力；亞硝醯胺却可直接表現其基因毒力。其作用之分子機制可由下列反應式比較說明之：



在臨床上使用的藥物裡，有許多可列入醯胺類化合物（表五）。有關亞硝基醯胺類藥物之研究比較少。此類化合物一旦形成就非常活潑很快就與週圍的帶電分子反應。DNA, RNA, Protein 及水都是它反應的對象。因此要研究這種化合物在生體中之形成與反應相當不容易。

本研究室最近作了一系列有關 N - Nitrosophenacetin 之研究^{17,18}。Phenacetin 曾經是常用的鎮痛劑，據瑞典專家的報告，長期服用此藥的結果會引起腎臟癌¹⁹。有人認為 Phenacetin 可能先 N - Hydroxylation 最後形成 Phenacetin- N - sulfate 而引起致癌作用，但此種推論尚未加證實。本研究室另闢途徑，探討 Phenacetin 先形成亞硝基化合物之可能性。

在試管中，Phenacetin 可與亞硝酸鹽反應而形成 N - Nitrosophenacetin。此新衍生物非常活潑，可與各種胺基酸，蛋白質，Adenosine 及 DNA 反應。它具有很強的致突變作用（表六）及致畸型作用（表七）。它對大腸菌的 SOS 功能也有誘導之作用²⁰。

爲了研究其作用機制，N - Nitrosophenacetin 與各種胺基酸的反應產物先加以分離，精製再加以

表五 醯胺類藥物

Table 5. Drugs Having Amide Groups

Name of Drug	Use
Phenacetin	Analgesic
Acetaminophen	Analgesic
Methypyrrolon	Hypnotic
Glutethimide	Hypnotic
Thalidomide	Hypnotic
Barbiturates	Hypnotic
Ethosuximide	Antiepileptic
Phenylethylhydantoin	Antiepileptic
Mephentoin	Antiepileptic
Diphenylhydantoin	Antiepileptic
Primidone	Antiepileptic
Cimetidine	Treatment of ulcer
Mersalyl	Diuretic
Mercaptomerin	Diuretic
Mercuraphylline	Diuretic
Meralluride	Diuretic
N-Acetylpenicillamine	Antidotes
Methotrexate	Antitumor
Idoxuridine	Antibiotic
Tolbutamide	Antidiabetic
Chlorpropamide	Antidiabetic
Tolazamide	Antidiabetic

鑑定。它與半胱胺酸之反應產物業已鑑定為 S - (4 - Ethoxyphenyl) - Cysteine 及 4 - Ethoxyphenylmercaptan²¹ 它與色胺酸，Glutathione 及 Adenosine 之結合物，也正在鑑定當中。

在生體中，Phenacetin 能不能形成 N - Nitr -

亞硝化藥物之基因毒力

表六 亞硝基非那西汀及其他之致突變作用

Table 6. Mutagenic Response of Phenacetin, N-nitrosophenacetin, 2-nitro-N-nitrosophenacetin and MNNG in *Salmonella typhimurium*

Compound	No. of revertant colonies nmol ^a					
	TA 98		TA 100		TA 1535	TA1538
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	-S9
Phenacetin	7	35	16	22	0	0
N-Nitrosophenacetin	232	339	114	265	81	4
2-Nitro-N-nitrosophenacetin	298	—	142	—	76	198
MNNG	72	184	32	152	32	250

^aThis was calculated from the linear portion of dose-response curve, and the data around 0.1-10 µg/plate were taken for this calculation. Data were corrected for the spontaneous revertants in the control systems. Average spontaneous revertants in TA 98, TA 100, TA 1535 and TA 1538 were 80, 163, 62 and 195 revertants/plate, respectively. S9: rat liver microsomal fraction and cofactors.; —, not done. Data cited from Line, et al (18).

表七 亞硝基非那西汀及其他之致畸型作用

Table 7. Teratogenic Effects of Phenacetin, N-nitrosophenacetin, and Other N-nitroso Compounds on the Chick Embryos

Compound ^a	Dose (µg/egg)	Viability (No. of chicks hatched/total)	Teratogenic effect in developed embryos		
			Without ^b	Moderate ^c	Severe ^d
Control (saline)	—	27/30	27	0	0
Phenacetin	15	16/20	16	0	0
N-Nitrosophenacetin	5	7/11	7	3	0
	10	6/11	5	4	1
	15	4/11	3	5	2
DMN	50	4/4	4	0	0
	100	0/6	0	0	0
DEN	50	4/4	4	0	0
	100	2/6	1	1	0
N-Nitrosomethylurea	1	6/8	6	1	0
	10	2/8	2	2	2
MNNG	1	2/8	2	3	2
	10	0/8	0	3	3

^aCompounds were dissolved in 0.1 ml saline and injected aseptically into the yolk sac of fertile eggs on day 6 of incubation.

^bNormal hatched chick, the viability of the control fertile eggs is approx. 90%.

^cDead embryos with feather retardation and growth inhibition.

^dDead embryos with feather retardation, growth inhibition, eyelid defect, exencephaly, and the curvature of the claw.

Data cited from Lin, et al (18).

osphenacetin 是值得進一步探討的問題。更有進者，其他的醃胺藥物在生體中能否形成亞硝基化合物也是值得研究的問題。

八生體中形成亞硝基化合物之探討

胺類與醃胺類藥物在生體中能否產生致癌性的亞硝基化合物當是最令人關心的問題。1972 年 Lijinsky 等人²² 以老鼠作實驗發現以 200-1000

ppm之亞硝酸鹽與 200-1000 ppm之 Aminopyrine 同時餵給老鼠時，結果 80 % 以上的動物產生肝癌。這個結果指出亞硝酸鹽在生體中可與 Aminopyrine 反應而產生 DMN。

一般人類癌症的潛伏期相當的長，學者們認為自數年至 20 年不等。因此致癌物與癌症發生的因果關係常常不易斷定。再加上一些生活習慣也能改變癌症發生的程序，更使此因果關係更趨複雜。

長期使用的藥物，其基因毒力，更宜加重視。由於生體中的亞硝酸鹽，來源很多¹，一些胺類與醯胺類藥物之攝取就是形成亞硝基化合物之決定因素²³。當然細胞中之酶群可把形成的亞硝基化合物代謝，去毒與排泄。如何增強宿主對這類化合物之去毒作用，也是值得加以探討的。

另一方面，由研究報告顯示食物中某些成份可以有有效的干擾亞硝基化合物之形成。值得一提的是食物中之Ascorbic acid對亞硝基化合物之產生有明顯的抑制作用²⁴。將來若能研究需要長期服用某種胺類或醯胺類藥物時，得考慮加議一起服用高劑量之Ascorbic acid，以抑制有害的亞硝基化合物之形成。

九誌謝

本報告之部份研究曾受行政院國科會 NSC - 75 - O412 - B002-14 之支持，謹此誌謝。

參考文獻

1. Lin, J. K. 1986. Food-borne amines and amides as potential precursors of endogenous carcinogens (Invited Review Paper). *Proc. Natl. Sci. Council(B) Life Sci.*, **10**(1), 20-34.
2. Lijinsky, W. and H. W. Taylor. 1976. Carcinogenicity tests of N-nitroso derivatives of two drugs, Phemetrazine and methylphenidate. *Cancer Lett.*, **1**, 359-363.
3. Lijinsky, W. 1974. Reaction of drugs with nitrous acid as a source of carcinogenic nitrosamines. *Cancer Res.*, **34**, 255-258.
4. Needleman, P. and J. C. Jr. Krantz. 1965. The biotransformation of nitroglycerin. *Biochem. Pharmacol.*, **14**, 1225.
5. Eisenbrand, G., B. Spiegelhalter, C. Janzowski, J. Kann and R. Preussmann. 1978. Volatile and non-volatile N-nitroso compounds in foods and other environmental media. pp. 311-324. In: E. A. Walker, M. Castegnaro, L. Gričute and R. E. Lyle, eds. *Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds*, IARC Scientific Publication No. 19. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
6. Scheunig, G. and D. Ziebarth. 1976. Formation of nitrosamines by interaction of some drugs with nitrite in human gastric juice pp. 269-277. In: E. A. Walker, P. Bogovski and L. Gričute eds. *Environmental N-Nitroso Compounds: Analysis and Formation*. IARC Scientific Publication No. 14. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
7. Barnes, J. M. and P. N. Magee. 1954. Some toxic properties of dimethylnitrosamine. *Br. J. Ind. Med.*, **11**, 167-174.
8. Magee, P. N. and J. M. Barnes. 1956. The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br. J. Cancer*, **10**, 114-122.
9. Schmahl, D., M. Habs and S. Ivankovic. 1978. Carcinogenesis of N-nitrosodimethylamine in chickens and domestic cats. *Int. J. Cancer*, **22**, 552-557.
10. Montesano, R. and H. Bartsch. (1976). Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds: Possible environmental hazards. *Mutat. Res.*, **32**, 179-228.
11. Ames, B. N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutation and cancer. *Science*, **204**, 87-593.
12. Yahagi, T., M. Nagao, Y. Seino, T. Matsushima, T. Sugimura and M. Okada. 1977. Mutagenicities of N-nitrosamines on *Salmonella*. *Mutat. Res.*, **48**, 121-130.
13. Larimer, F. W., D. W. Ramey, W. Lijinsky and J. L. Epler. 1978. Mutagenicity of methylated N-nitrosopiperidine in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.*, **57**, 155-161.
14. Langenbach, R., R. Gingell, C. Kuszynski, B. Walker, D. Nagel and P. Pour. 1980. Mutagenic activities of oxidized derivatives of N-nitrosodipropylamine in the liver cell mediated and *Salmonella typhimurium* assays. *Cancer Res.*, **40**, 3463-3467.
15. Lawley, P. D. 1980. DNA as a target of

- alkylating carcinogens. *Br. Med. Bull.*, **36**, 19-24.
16. Nicholas, B. P. and C. Yanofsky. 1979. Nucleotide sequences of *trpA* of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. An evolutionary comparison. *Genetics*, **76**, 5244-5248.
17. Franza, B. R. Jr., N. S. Oeschger, M. P. Oeschger and P. S. Schein. 1980. Mutagenic activity of nitrosourea antitumor agents. *J. Natl. Cancer Inst.*, **65**, 149-154.
18. Lin, J. K., J. Y. Yen, H. W. Chang and S. Y. Lin-Shiau. 1984. N-Nitrosophenacetin: Its synthesis, characterization, mutagenicity and teratogenicity. *J. Natl. Cancer Inst.*, **72**, 863-869.
19. Johansson, S., L. Angervall, U. Bengtsson and L. Wahlqvist. 1974. Uroepithelial tumors of the renal pelvis associated with abuse of phenacetin-containing analgesics. *Cancer*, **33**, 743-753.
20. Wang, C. J., W. K. Chen, S. J. Shiow, M. C. Chou and J. K. Lin. 1985. Effects of N-nitrosophenacetin, N-nitrosomethylurea and 4-nitroquinoline-N-oxide on the induction of SOS function in *Escherichia coli*. *J. Chinese Oncol. Soc.*, **1**(2), 7-13.
21. Lin, J. K. and H. M. Yeh. 1985. Formation of S-(4-Ethoxyphenyl)-cysteine and 4-ethoxyphenylmercaptan from N-nitrosophenacetin and cysteine. *J. Chinese Oncol. Soc.*, **1**(1), 7-14.
22. Lijinsky, W. and M. Greenblatt. 1972. Carcinogen dimethylnitrosamine produced in vivo from nitrite and aminopyrine. *Nature New Biol.*, **236**, 177-178.
23. Mirvish, S. S. 1975. Formation of N-nitroso compounds: Chemistry, kinetics and in vivo occurrence. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **31**, 325-351.
24. Cardesa, A., S. S. Mirvish, G. T. Haven and P. Shubik. 1974. Inhibitory effect of ascorbic acid on the acute toxicity of dimethylamine plus nitrite in the rat (37761). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **145**, 124-128.