

大白鼠对蒿甲醚的快速吸收及其在体内的分布*

邹 崇 达

(华侨大学化工与生化工程系, 泉州 362011)

摘要 用 TLC 扫描法研究大白鼠对蒿甲醚(MDA)的快速吸收及 MDA 在其体内的分布,结果表明,MDA 在大脑、肌肉中可以维持较高浓度及较长时间. 在代谢活跃的肝、肾等脏器中则维持的时间较短,分布的量也较少. 按每 kg 体重给药 80 mg, 60 min 后,MDA 在大白鼠血球与血浆中的浓度之比为 0.53, 120 min 后在血浆中的浓度为 $1.204 \times 10^{-9} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,但在其他脏器中都检测不出.

关键词 蒿甲醚, TLC 扫描法, 吸收与分布, 大白鼠

分类号 R 965.2

MDA 是我国首创的新型抗疟药物青蒿素的水溶性衍生物,比其母体具有更强的疗效^[1],对伯氏疟原虫抗氯奎株和敏感株,对食蟹猴疟原虫的疗效都比青蒿素高. 同时,MDA 对血吸虫亦具有较好疗效^[2-3],且毒性小^[4],因此,有必要进一步研究动物对 MDA 的快速吸收特性及其在动物体内的分布. MDA 在大白鼠体内的分布与代谢已有用同位素示踪法研究的报道^[5],但不能将 MDA 及其代谢物加以区分. 用 TLC 扫描方法可以专一性地定量地研究 MDA 的代谢状况. 经研究,建立了一套合适的测定 MDA 在大白鼠体内各组织及血液中的分布与代谢的 TLC 扫描法,弄清了 MDA 在各类组织及血液中的代谢规律. 结果指出,MDA 易于进入血球,并能穿过血脑屏障,这对治疗恶性脑型疟疾具有重要意义.

1 材料与方 法

1.1 材 料

(1)主要仪器:岛津 CS-910 型双波长色谱扫描仪;MD-1 型积分扫描仪(扫描波长 660 mm,参比波长 760 mm,扫描速度 $20 \text{mm} \cdot \text{min}^{-1}$,扫描方式为反锯齿扫描,狭缝宽度 $1.25 \text{mm} \times 1.25 \text{mm}$,积分灵敏度为 1). (2)抽提溶剂:正戊烷-二氯甲烷(1:1)(如无特殊说明,配比均为 V/V,试剂级别均为 AR,正戊烷需要重蒸). (3)显色剂:0.25 g 对二甲氨基苯醛,加 2.92 mL 磷酸,47.6 mL 冰醋酸,20 mL 去离子水配成溶液,黑纸包好,置 4℃ 冰箱保存. (4)MDA,青蒿素:昆明制药厂提供(批号 820300,830245),分别以乙酸乙酯溶解,制成溶液,4℃ 冰箱保存. (5)脂肪乳剂:Introlipous(日本). (6)DMA(N'N-二甲基乙酰胺):符合 FT-14-6 标准. (7)MDA 脂肪乳剂的制备:80 mg MDA 溶于 0.4 mL DMA 中,徐徐滴入 Introlipous 脂肪乳剂,边加边搅拌,至完全溶解.再加乳剂至 10 mL,置冰箱保存,保存期限为 4 d. (8)动物:大白鼠,

* 本文 1996-02-07 收到

体重 $147\text{g} \pm 10\text{g}$, 雌雄不限。

1.2 方法

(1) 给药及组织匀浆的制备. 按每 kg 体重给大白鼠 MDA 脂肪乳剂 80 mg, 分别在 15 min, 30 min, 60 min, 10 min, 240 min 后经腹主动脉取血(肝素抗凝), 处死动物, 立即取出脏器, 置冰箱保存. 血液放在 8 000 型离心沉淀器上离心($3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$)12 min, 取上层清液, 下层血球以两倍生理盐水洗涤三次, 然后, 经 1.5 倍去离子水溶血. 脏器经生理盐水洗净, 吸干水份. 剪细, 称重, 以 $0.067\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\ \text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液(PBS)制成 2% 的组织匀浆, 置 4℃ 冰箱保存.

(2) 生物样本的提取. 取螺口试管依次编号, 每只管分别加内标物青蒿素, 另外对照管加 $1.0\ \mu\text{g}$ 标准 MDA 及 1.0 mL PBS, 样本管加相应组织匀浆 1.0 mL 或适量血浆. 加 4 倍抽提溶剂, 置振荡器上依次振荡 10 s, 循环六次, 离心 7 min, 取有机相; 提取三次, 合并上层有机相, 在 45℃ 恒温水浴中挥干.

(3) 点样. 20 cm×20 cm 硅胶 G 板(上海有机所提供)在 110℃ 活化 1 h, 放置 1 d 后备用. 将样品以乙酸乙酯溶解, 0.5 mm 毛细管点样.

(4) 展层. 层析缸内四壁置滤纸, 缸内放置适量展层剂, 使展层剂将滤纸润湿, 缸内空间饱和展层剂, 展层一次 60 min. 展层一次后立即取出置通风橱内抽干, 再展层, 再抽干.

(5) 显色. 用喷雾器将显色剂均匀分布于层析板上, 以刚好润湿为度. 于通风橱内抽 10 s, 80℃ 烘 1 h.

(6) 板的保存. 板制好后, 不要裸置, 以滤纸包好, 否则易褪色. 一般在 24 h 内扫描. 本试验使用 TLC 扫描法测定 MDA, 系参考文[6], 但是由于动物脏器较血浆内杂质多, 所以文献提供的方法不完全适用. 主要存在以下问题: (a) 杂质太多难以点样; (b) 样品点与杂质点不易分离; (c) 各种脏器组织匀浆内含物不完全一样, 回收率也不一样. 所以标准曲线法也不适用. 经研究作如下改进, 二氯甲烷与正戊烷按 1:1 体积混合作为抽提溶剂可以解决(a), (b) 两个问题, 以青蒿素作为内标物后, 可以提高 MDA 定量之精度, 可解决问题(c), 但是青蒿素与生物样本中的杂质分离不太好, 对扫描结果有影响. 分级展层^[7]可以将这两者分开, 效果良好.

(7) 生物样本中 MDA 浓度计算^[8]. $X = (M_2 \cdot Y \cdot N) / (M_1 \cdot V)$, X 为样本中的 MDA 浓度; M_1, M_2 分别为对照管及样本管中 MDA 与青蒿素扫描峰面积之比; Y 为对照管中所加 MDA 量(μg); V 为取样体积(mL); N 为稀释倍数.

2 结果与讨论

实验结果表明(表略), 大白鼠在给药 15 min, 30 min, 60 min 之后, 以血浆分布最高, 其次为脑、心脏、肌肉, 而肝肾分布最少, 随着时间延长, 血浆中浓度衰减最快; 120 min 后只有血浆可以查出少量, 其他脏器则在 120 min 后完全无法检出; 15 min 后在大脑、肌肉中已达到相当高的浓度, 这说明 MDA 转运相当快, 并能通过血脑障屏. 其次, 从脑与血浆浓度之比的时间曲线可以看出 MDA 在脑内衰减要比在血浆中衰减慢得多(图略), 表明 MDA 易于转入大脑内, 对治疗脑型恶性疟疾将十分有利.

大白鼠在给药后, MDA 在肝、肾等代谢活跃的脏器含量较少, 在大脑、肌肉中含量较多. 表明 MDA 进入肝、肾等脏器后很快被代谢分解成不可查知的代谢产物, 同时也说明肝、肾可

能是主要的代谢场所.而在代谢相对不活跃的大脑、肌肉中分布较多,以较高浓度存在较长时间.随着时间延长,其他脏器内含量衰减很快,只有在脑肌肉中衰减很慢.说明在大多数组织中不会积累MDA,这与文[5]报道相符.

实验结果还指出,MDA能渗透到血球里,而且血球与血浆浓度之比时相曲线不是一条水平线.说明MDA在血球,血浆中浓度衰减不相平衡.因此,MDA一旦进入血球,将可停留较长时间,正好解释了MDA是一种良好的抗疟疾药物这一事实.

参 考 文 献

- 1 严汉英. 14C-甲基还原青蒿素的合成. 医药工业, 1981, (5): 1~3
- 2 乐文菊. 蒿甲醚对日本血吸虫及其虫卵的作用. 中国药理学报, 1984, 5(1): 60~63
- 3 杨元清. 蒿甲醚, 吡喃烯唑及尼立达唑对小鼠肝内日本血吸虫童虫作用的组织学观察. 中国药理学报, 1986, 7(3): 276~278
- 4 陈丽娟. 蒿甲醚对小鼠, 大鼠和兔胚胎的毒性和无致癌性. 中国药理学报, 1984, 6(2): 118~122
- 5 姜纪荣. 蒿甲醚在小鼠, 大鼠体内的吸收分布与排泄. 中国药理学报, 1983, 4(1): 197~201
- 6 张银娣. 血浆中甲基青蒿素(蒿甲醚)的薄层扫描定量法. 中国药理学报, 1982, 3(3): 3~6
- 7 陶 锐. 薄层色谱在食品卫生分析上的应用. 成都: 四川人民出版社, 1982. 1~60
- 8 Prescott L F. Rapid gas-liquid chromatographic estimation of antipyrine in plasma. J. Pharm. Pharmacol., 1973, 25: 205~208

Fast Absorption of Artemether by Rat and Its Distribution in the Body of Rat

Zou Chongda

(Dept. of Chem. & Biochem. Eng., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou)

Abstract With respect to the new antimalarial drug artemether, a derivative of artemisinin, a study is made on its fast absorption into and its distribution in the body of rat by applying thin-layer chromatographic densitometry. As shown by the results, it can be durably concentrated in brain and muscle but soon disappeared from such organ as liver and kidney where metabolism go on actively. 60 minutes after it is given intravenously in a dosage of $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, it shows a concentration ratio of 0.53 in R. B. C and blood plasma, 120 minutes afterward, it shows a concentration of $1.204 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ in blood plasma but cannot be detected from other organs.

Keywords thin-layer chromatographic densitometry, artemether, absorption and distribution, rat