

抗辐射药氨丙基甲基异硫脲在小鼠的代谢

夏寿萱 陈能乾 沈倍奋 徐惠英 赵素敏 沈文梅 (军事医学科学院放射医学研究所, 北京)

提要 本文研究了 [^{35}S] (3-氨丙基)- N' -甲基异硫脲双盐酸盐 (APMT) 在小鼠的吸收、分布、排泄和生物转化。小鼠腹腔注射和口服 APMT 后血浆总放射性的变化基本上能反映抗辐射药的效价; 药物在胃中基本上不吸收, 但在小肠中吸收较快, 大部分药物及其代谢物在第 1 d 由尿中排泄, 小部分由粪排泄, 3 d 内完全排泄; APMT 在骨髓和脾脏中的分布比在相同重量的血浆中多, 且与防护效价相关。用纸层析谱扫描法对骨髓和脾脏中的有效代谢物进行了分析; 观察了 APMT 在肝脾细胞的细胞核和线粒体等中的分布及动态变化, 并对可能的辐射防护机制进行了讨论。

关键词 抗辐射药; 氨丙基甲基异硫脲; 药物代谢; 吸收; 分布; 排泄; 生物转化; 亚细胞分布

S -(3-氨丙基)- N' -甲基异硫脲双盐酸盐有 3 个优点: 1. 有效剂量较低, 用药量小; 2. 有效剂量范围较宽; 3. 药效维持时间较长。是一个可能有应用价值的抗辐射药物。为此, 对 ^{35}S 标记的该药 (以下简称 APMT) 的代谢特点进行了研究。

方 法

一、药物 APMT 由本所标记合成⁽¹⁾, 层析纯, 比度 $6 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ 。示踪剂量: 一般试验, $1 \mu\text{Ci}/\text{鼠}$; 细胞分布试验, $8 \mu\text{Ci}/\text{鼠}$; 代谢产物层析, $10-20 \mu\text{Ci}/\text{鼠}$ 。配药时将非标记 APMT 作为稀释剂。给药总剂量是腹腔注射 $4 \text{mg}/\text{鼠}$, 口服 $8 \text{mg}/\text{鼠}$ 。

二、动物 小鼠, 雄性, 体重 $20-26 \text{g}$ 。

三、取样和制样 小鼠股动脉放血, 肝素抗凝。肝取一部分。脑、肾、脾等取全部。骨髓取自股骨。粪尿于小鼠代谢笼中收集。组织和粪按 Jeffay 法⁽²⁾用 $\text{HNO}_3-\text{HClO}_4$ 消化。尿直接加至闪烁液中。

四、放射性测量 样品用液体闪烁仪测量并进行淬灭校正。纸层析谱用 EKCO 纸层析

谱扫描仪测定。

五、纸层析 用 2 倍丙酮沉淀样品中的蛋白质, 将上清液在红外灯下浓缩后点样, 用新华 1 号滤纸, 溶剂系统为正丁醇:醋酸:水 (4:1:1), 上行展开。

六、细胞内的药物分布 肝脾取自 10—12 只小鼠, 按 Hogeboom 法⁽³⁾分离细胞核和线粒体等, 各加脱氧胆酸钠使结构破坏, 用双缩脲法定 N。按 Bloom 法⁽⁴⁾制样测放射性。

七、小鼠血浆放射性与抗辐射效价的关系 以 10 只小鼠, 给药后不同时间取血浆, 测 ^{35}S 放射性。同时以另 1 批小鼠, 全身 1 次 ^{60}Co 照射 6Gy , 照前不同时间给以非标记药物, 7 d 后活杀, 检查 1 侧股骨的骨髓有核细胞数并称脾重。以对照组 (单照射不给药) 小鼠的骨髓细胞数和脾重作 100%, 计算防护效价。

八、胃肠道中药物的吸收 以 APMT 溶液给结扎幽门小鼠灌胃, 于药后 30 和 120 min 分别活杀, 测血浆放射性。另两组以药液直接注入小肠上段幽门下数 cm 处, 同样按时活杀, 测血浆放射性。

结果和讨论

一、血浆放射性与抗辐射效价的关系 小鼠腹腔注射 APMT 后的血浆放射性变化见表 1。

由表 1 可见血浆放射性的消长情况和骨髓有核细胞数及脾重的变化是一致的。较高的血浆放射性和较好的防护效价都在药后 30 min 至 2 h 之间, 药后 6 h 血浆放射性下降较多, 防护效价也不明显。在效价的表现上, 骨髓细胞数

1979年12月15日收稿 1980年3月10日修回
本文于1979年11月中国药学会第四届全国药理学学术会议上宣读。

表 1 小鼠腹腔注射 APMT 后血浆放射性与抗辐射效价的关系(每组 10 鼠)($\bar{x} \pm SE$)

时 间 (h)	血浆放射性 (cpm/0.1ml)	骨髓细胞数 (万)	脾脏重量 (mg)
对 照	—	422 ± 86	23 ± 2
0.5	3094 ± 141	1490 ± 129*	43 ± 4*
1	3073 ± 157	1389 ± 123*	41 ± 4*
2	1612 ± 144	1191 ± 111*	35 ± 4
3	1108 ± 92	891 ± 130*	30 ± 3
4	619 ± 83	856 ± 75*	29 ± 2
6	406 ± 69	449 ± 56	24 ± 2

* $P < 0.01$

比脾重反应灵敏,除在 30 min 至 2 h 效价较高外,即使在 3—4 h 与照射对照组相比,差别也非常显著。

以血浆放射性对骨髓细胞数和脾重(均为扣除对照后的净值)作图可得两条直线(图 1)。直线回归方程式和相关系数依次为:

$$\text{骨髓 } \hat{Y} = 0.003059X + 1.169 \quad r = 0.934$$

$$\text{脾 } \hat{Y} = 0.006086X + 0.1954 \quad r = 0.978$$

这里 X 代表血浆放射性的强度(cpm), \hat{Y} 分别代表骨髓细胞数(百万)或脾重(mg)的净值。

上述结果表明血浆总放射性与骨髓细胞数

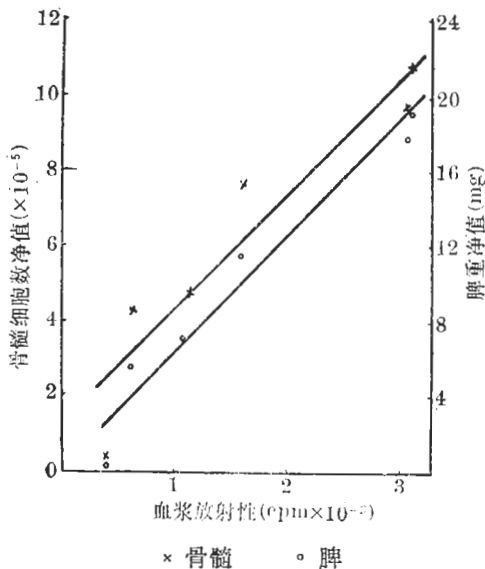


图 1 血浆放射性与抗辐射效价的关系

和脾重之间相关非常密切,血浆总放射性可作为估计效价的指征。

小鼠口服 APMT 后的血浆放射性曲线也基本上能够反映这个药物的口服效价。由于口服后药物吸收较慢,高峰推迟到药后 2 h,峰值较腹腔注射组低,效价也较差。

二、APMT 在胃肠道中的吸收 以 APMT 溶液分别注入结扎幽门后的小鼠的胃或小肠上段,观察药物的吸收情况。结果 30 min 后胃中放射性为 93 cpm,小肠上段为 2029 cpm,120 min 后胃中放射性为 112 cpm,小肠上段为 3812 cpm。可见药物在胃中基本不吸收,或吸收极少,血浆放射性仅略高于本底(83 cpm),时间的影响不明显。而在小肠中则吸收多,药后 120 min 血浆放射性高于 30 min。

三、APMT 的排泄 APMT 从体内排泄较快,小鼠口服 8 mg 后第 1 d 就从尿中排出给入放射性的 77%,尿粪合计共排出 81%,3 d 内药物完全排出体外,参阅表 2。

表 2 4 只小鼠口服 APMT 后的放射性平均排泄率(%)

	0—24 h	24—48 h	48—72 h	合计
尿	77	14	5.0	96
粪	3.4	2.1	2.0	7.5

四、APMT 在组织中的分布 表 3 指出,小鼠口服 APMT 8 mg/鼠后 2 h,肝脏中分布的放射性最多,达到给入量的 4.6%,肾脏次之,脑更次之。如以 100 mg 组织所含总放射性计,脾的放射性大于脑。鉴于在肝肾中分布的药量较多,临床使用 APMT 时对肝肾功能的影响应予注意。药后 72 h 组织中的放射性已很少,只占给入量的 0.02—0.19%。这对于连续服药是有利的。

在另一批实验中,着重观察了腹腔注射后不同时间 APMT 在骨髓,脾脏和血浆中的分布。如以每 100 mg 组织中所含的总放射性表示,则骨髓中分布的放射性最多。在药后 1 h 高达同量血浆所含放射性的 5 倍;脾脏单位重

表 3 小鼠口服 APMT 后脏器中的放射性分布

	2 h		72 h	
	cpm/100 mg 组织	给入量的 % (全器官)	cpm/100 mg 组织	给入量的 % (全器官)
肝	1925 (5)	4.6	71 (5)	0.19
肾	1738 (5)	1.0	118 (5)	0.08
脑	324 (4)	0.32	34 (3)	0.04
脾	646 (5)	0.14	112 (4)	0.02

括号内为实验次数

量中的放射性也较同量血浆高 50%。图 2 表示骨髓、脾脏中放射性分布和效价之间的关系。值得注意的是骨髓中放射性分布较多，在骨髓细胞数方面表现出来的效价也最好，脾脏单位重量中放射性含量比骨髓少，在脾脏方面表现出的效价也较差。随着时间后延，骨髓、脾脏中药量减少，效价也下降。统计处理表明，骨髓、脾脏中 ^{35}S 放射性与对这两个组织的防护效价密切相关。因此，可以认为 APMT 直接保护了骨髓和脾脏细胞。

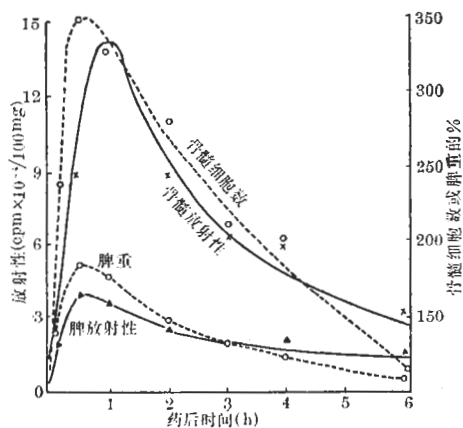


图 2 骨髓脾脏的效价和 ^{35}S 放射性分布的关系

五、APMT 在肝、脾细胞内的分布

小鼠腹腔注射 APMT 后效价较高时(药后 1h)和基本失效时(药后 6h),该药在肝和脾细胞内的分布(表 4)指出在肝细胞 $9000 \times g$ 上清液中的放射性最高。药后 1h, 这部分占肝细胞总放射

表 4 小鼠腹腔注射 APMT 后肝、脾细胞中的放射性分布

分布部位	1 h 总放射性 (cpm $\times 10^{-3}$)	放射性 (cpm/mgN)			
		1 h	6 h	6 h 下降%	
肝	细胞核	4.2	2.70	0.72	73
	线粒体	7.26	4.98	1.02	80
	上清液	490.98	30.72	0.84	97
脾	细胞核	7.56	2.40	0.72	70
	线粒体	5.760	3.84	1.86	52
	上清液	228.00	14.58	4.14	72

性的 97% 以上。如按每 mg N 所含的放射性计, 则上清液多于线粒体, 线粒体多于细胞核。随着时间的后延, 这 3 部分的放射性都迅速下降, 但上清液中放射性下降更快。药后 6 h 上清液中的放射性已下降 97%。说明肝细胞 $9000 \times g$ 上清液可能是代谢和处理药物最活跃的部分。

从表 4 还可见到脾细胞在药物分布的动态变化上和肝细胞不同: 1. 药后 1 h 脾细胞 $9000 \times g$ 上清液所含的放射性相对地比肝细胞少; 2. 脾细胞核内的放射性多于线粒体; 3. 在脾细胞线粒体内每 mg N 所结合的放射性较牢, 在药后 6 h 仍含有 1 h 的 48%。脾脏是小鼠造血组织之一。脾细胞核是 DNA 和核 RNA 的集中地, 线粒体是进行氧化磷酸化的重要场所, 这些都是辐射敏感部位。APMT 在脾细胞核中的分布相对较多和与线粒体结合较牢的现象可能与它对造血机能的保护作用有关。

六、骨髓和脾脏中药物代谢产物的分析

利用纸层析谱扫描法, 比较了腹腔注射 APMT 后 1 和 6 h 小鼠骨髓和脾脏中药物代谢物的差异。从图 3 可见: 1. 药后 1 h 时骨髓和脾脏层析谱的代谢物主峰的 R_F 值都为 0.65—0.67; 2. 药后 6 h 上述组织中药物进一步代谢, 主峰 R_F 值下降至 0.43—0.46。在平行试验中药后 1 h 的肝脏、血浆和尿的层析谱主峰 R_F 都在 0.52—0.55 之间, 和骨髓、脾脏的层

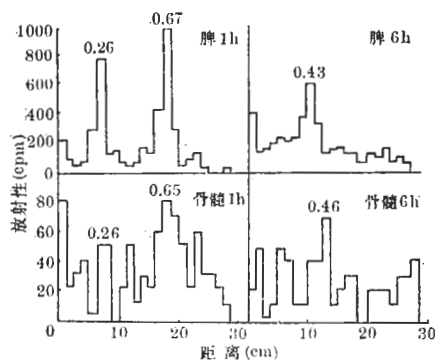


图3 小鼠腹腔注射 APMT 后不同时间骨髓脾脏中药物代谢物层析谱的比较
析谱不同。这些结果提示：APMT 对骨髓和脾脏的保护作用可能不是由于 APMT 原药 (R_F

0.18—0.21), 而是与它的 R_F 0.65—0.67 的代谢产物有关。至于这个代谢物的化学结构, 还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 赵忠、江幼岷、戴昌世. 原子能科学技术 1979 年 11 月; (5): 588
- 2 Jeffay H, Olubajo FO, Jewell WR. *Anal Chem* 1960 Mar; 32 (3): 306
- 3 Hogeboom GH. Fractionation of cell components of animal tissues. In: Colowick SP, Kaplan NO, eds. *Methods in enzymology*, vol 1. 1st ed. New York: Academic Press, 1955: 16—9
- 4 Bloom PM, Nelp WB. *J Lab Clin Med* 1965 Jun; 65 (6): 1030

Acta Pharmacologica Sinica 1980 Dec; 1 (2): 116—120

METABOLISM OF THE RADIOPROTECTIVE AGENT AMINO-PROPYL-METHYL-ISOTHIUREA IN MICE

SHIA Shou-shuan, CHEN Neng-chien, SHEN Bei-feng, XU Hui-ying, ZHAO Su-min, SHEN Wen-mei (*Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing*)

ABSTRACT The absorption, distribution, excretion and biotransformation of ^{35}S labeled (3-aminopropyl)- N' -methyl-isothiurea dihydrochloride (APMT) were studied in mice.

1. The plasma concentrations of the drug after ip or po APMT were closely related to the radioprotective effects.

2. APMT was almost unabsorbed in stomach, but was quickly and completely absorbed in small intestine. The excretion was rapid; most of it was excreted from urine within 24 h. The total radioactivity was almost entirely recovered from the excreta after 72 h.

3. The radioactivity was much higher in

bone marrow and spleen than in plasma. The effectiveness of the drug was proportional to the radioactivities distributed in these tissues. The metabolites in these tissues were analyzed by paper chromatography and subsequent scanning.

4. The distribution of the drug in the cell nuclei, mitochondria and 9000 g supernatants of spleen and liver cells were determined by differential centrifugation. The radioactivity was higher in the nuclei fraction and more firmly bound with mitochondria in the spleen cells than that in the liver cells. Its significance was discussed in connection with the protective action of the drug on hematopoietic

tissues.

KEY WORDS radioprotective agent;
amino-propylmethyl-isothiourea; drug

metabolism; absorption; distribution;
excretion; biotransformation; sub-
cellular distribution

*

*

*

*

*

*