

## 蒿甲醚对小鼠、大鼠和兔的胚胎毒性和无致畸性

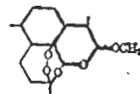
陈丽娟 王美瑛 孙伟康 刘明章 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 小鼠受孕后 d 6-15 im 蒿甲醚 5.4 mg/kg qd, 对胎鼠体重、身长、外观、内脏及骨骼发育无明显影响; 小鼠 im 10.7 和 21.4 mg/kg 分别有 30% 和 100% 胚胎被吸收, 但 im 21.4 mg/kg 在受孕后 d 1-5 和 d 12-17 对胎鼠生长发育无明显影响。大鼠和兔在相应的低剂量时对胎仔生长发育亦无影响, 在相应高剂量时大量胚胎被吸收。小鼠受孕后 d 6-15 im 蒿甲醚对第二代胎鼠生长发育无不良影响。

**关键词** 蒿甲醚; 阿司匹林; 胚胎吸收; 小鼠; 大鼠; 兔

蒿甲醚(甲基二氢青蒿素, I)为新类型抗疟药青蒿素的衍生物<sup>(1)</sup>, 比青蒿素的抗疟效价高, 复发率低, 油溶性好, 化学稳定<sup>(2)</sup>。小鼠,

大鼠, 兔, 狗和猴实验表明它的亚急性毒性比氯喹低。狗和猴的亚急性毒性实验的病理组织及一般观察表明其安全度大<sup>(3)</sup>。本工作用小鼠, 大鼠和兔观察蒿甲醚对胚胎及胎仔的毒性表现。



### 材 料 和 方 法

蒿甲醚由我所植化室提供, 白色晶状, 溶于茶籽油或花生油(市售食用油)中。实验用小鼠和大鼠, 由中国科学院上海实验动物繁殖中心供给。兔为上海生物制品所提供“青紫兰”灰

色兔。

### 实验方法<sup>(4)</sup>

合笼交配试验 取体重  $236 \pm (\text{SD}) 21 \text{ g}$  的大鼠, 或体重  $29 \pm 2 \text{ g}$  的小鼠, 按 1♂ 2♀ 合笼, 每天上午 8 时 对大鼠作阴道涂片, 检查精子。小鼠检查阴栓。逐天将查到受精阳性的♀鼠分入各实验组, 并开始作为妊娠的 d 0。另取体重  $3.3 \pm 0.4 \text{ kg}$  的健康♀兔和♂兔配对交配, 交配上的♀兔用于实验。实验分溶媒对照组, 阿司匹林阳性致畸对照组和高甲醚不同剂量组。鼠类和兔主要给药时间为器官形成期, 它们分别是受孕后的 d 6-15 和 d 7-18。据文献<sup>(5)</sup>报道化学物质的毒性有时会通过改变给药途径而改变, 本实验主要给药途径为 im 同时也做了 ig 给药的观察。

为观察蒿甲醚对小鼠第二代胎鼠(仔鼠成熟后交配怀孕后的胎鼠)生长发育的影响, 对照与给药各组取 40 只受精♀小鼠, 孕后 d 6-15, 每 d im 蒿甲醚  $10.7 \text{ mg/kg}$ , 于孕后 d 18 对照组与给药组各解剖 10 只孕鼠, 记录死胎和吸收数及其发生的%, 二组各留 30 只孕鼠, 任其自然产仔(第一代), 对仔鼠均在出生后 d 25 称重分笼, 生后 d 50-60 体重  $24-30 \text{ g}$ , 进行同组内交配, d 18 解剖孕鼠(其胎鼠即第二代)。

小鼠, 大鼠及兔分别于受孕后 d 18, 20, 29 处死, 记录胎仔数及其体重、身长, 性别, 胚胎吸收数(有着床斑或着床处的坏死组织块的谓吸收, 能辨认出胎儿外形并无活力的谓死胎), 死胎数和外观畸形。各取半数胎仔对其骨骼用茜素红(alizarin red)染色后检查骨骼发育有否畸形, 另一半用 Bouin 氏液固定胎仔后检查内脏发育有否畸形等<sup>(6)</sup>。

## 结 果

**蒿甲醚对小鼠的胎鼠发育的影响** 小鼠受孕后 d 6-15 im 蒿甲醚  $0.7, 2.7$  和  $5.4 \text{ mg/kg}$  qd, 对孕鼠的胎鼠数, 胎鼠体重, 胚胎吸收数和其吸收的%与对照组比较, 差异均不显著。当剂量增到  $10.7 \text{ mg/kg}$  有 30% 胚胎被吸收

(子宫内只见着床处有芝麻大小的残存物或有部分残存胎盘及绿豆大或黄豆大的软性灰黄色坏死物), 与对照组差异显著( $p < 0.05$ ), 存活胎鼠发育均正常, 剂量增大到  $21.4$  和  $42.9 \text{ mg/kg}$  可引起 100% 胚胎被吸收(表 1)。

在受孕后 d 9-11, im 蒿甲醚  $21.4 \text{ mg/kg}$  与 d 6-15 im 蒿甲醚的效果相似, 受孕后 d 6-8 im, 产生 28% 胚胎被吸收, 比对照组明显增高( $p < 0.05$ ), 但远较 d 9-11 作用小。而在器官形成前(d 1-5), 器官形成晚期(d 12-14)及器官形成后期(d 15-17)组, 吸收的发生率均与对照组无显著差异(表 1)。

**蒿甲醚对大鼠胎鼠发育的影响** 受孕后 d 6-15 im 蒿甲醚  $2.7 \text{ mg/kg}$ , 胎鼠的数量、体重、身长和胚胎吸收%均与对照组相似, 剂量增大到  $10.7 \text{ mg/kg}$  有 90.3% 胚胎被吸收( $p < 0.01$ ), 但存活胎鼠都发育正常(表 1)。

受孕后 d 6-15, ig  $5 \text{ mg/kg}$  连续 10 d, 胎鼠数、体重和胚胎吸收发生%均与对照组无明显差异, 剂量增大到  $20 \text{ mg/kg}$  有 67% 胚胎被吸收( $p < 0.01$ ), 活存胎鼠发育良好。同样剂量在器官形成期前(受孕后 d 2-6) ig, 上述所观察各项指标均与对照组相似。以致畸阳性药阿司匹林比较, 于受孕后 d 6-15, ig 阿斯匹林  $250 \text{ mg/kg}$  连续 10 d, 胚胎吸收数占 66%, 活存胎鼠中有 36% 外观畸形, 表现为头顶部正中矢状缝处及鼻三角区凹陷, 48% 骨骼发育不全, 如前后囟过大, 枕骨小, 胸骨部分缺少(第二和第五枚), 胎鼠体重明显比对照组减轻( $p < 0.001$ )。7 只死胎中有 3 只露脑畸形(表 1)。

**蒿甲醚对兔胎的影响** 受孕后 d 7-18 im 蒿甲醚  $0.7 \text{ mg/kg}$ , 连续 12 d, 从胎兔数, 体重, 身长及胚胎吸收数均与对照组无显著差异( $p > 0.05$ ), 剂量增大到  $2.7 \text{ mg/kg}$ , 有 96% 胚胎被吸收, 与对照组差异显著( $p < 0.001$ ), 其中有 1 只活胎兔发育良好, 体重  $82 \text{ g}$  (对照  $\bar{x} = 41.5 \text{ g}$ ), 身长  $12.5 \text{ cm}$  (对照  $\bar{x} = 8.5 \text{ cm}$ ), 剂量增大到  $5.4, 10.7 \text{ mg/kg}$  有 100% 胚胎被吸收(见表 1)。

Tab 1. Effects of artemether (Art) on animal fetuses. Asp = aspirin; Pea = peanut oil; Tea = tea - seed oil. ( $\bar{x} \pm SD$ )

| Animals | Route   | Drugs | Treatment days after gestation |           | Daily (mg/kg) | Pregnant animals | Live fetuses |          | Length(cm) | Number of resorption | Dead fetuses |  |
|---------|---------|-------|--------------------------------|-----------|---------------|------------------|--------------|----------|------------|----------------------|--------------|--|
|         |         |       | Number                         | Weight(g) |               |                  |              |          |            |                      |              |  |
| Mice    |         | Pea   | 6-15                           | 5 ml      | 20            | 9±9              | 1.3±0.2      | 2.3±0.1  | 1.1±0.9    | 0.2±0.3              |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 0.7       | 13            | 8.3±2.5          | 1.1±0.4*     | —        | 0.2±0.7*   | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 2.7       | 12            | 7.5±3.5          | 1.4±0.4*     | 2.5±0.1* | 0.5±0.7*   | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 5.4       | 21            | 9.7±2.3          | 1.3±0.5*     | 2.4±0.1* | 0.4±0.9*   | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 10.7      | 20            | 8±4.5            | 1.1±0.4*     | 2.3±0.1* | 2.3±0.1**  | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 21.4      | 18            | 0                | —            | —        | 9.9±2.5*** | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 1-5                            | 21.4      | 8             | 10±1.7           | 1.2±0.1*     | 2.3±0.1* | 0          | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-8                            | 21.4      | 14            | 5.3±4.1          | 1.1±0.4*     | 2.2±0.2* | 2.1±3.4**  | 0.3±0.5*             |              |  |
|         |         | Art   | 9-11                           | 21.4      | 13            | 0                | —            | —        | 9.6±2.2*** | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 12-14                          | 21.4      | 15            | 8.7±3.5          | 1.2±0.4*     | 2.3±0.2* | 0.5±1.2*   | 0.2±0.4*             |              |  |
|         |         | Art   | 15-17                          | 21.4      | 15            | 7±4              | 1.2±0.4*     | 2.3±0.1* | 0.5±1.9*   | 0.1±0.4*             |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 42.9      | 8             | 0                | —            | —        | 8.4±1.7*** | 0                    |              |  |
| Rats    |         | Tea   | 6-15                           | 1 ml      | 25            | 7.8±2.5          | 3.9±0.5      | 3.3±0.1  | 0.3±0.5    | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 2.7       | 25            | 9.6±2.5          | 4±1*         | 3.3±0.3* | 0.2±1*     | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 10.7      | 14            | 1.0±2.5          | 3.3±0**      | 3.3±0*   | 9.4±3.4*** | 0                    |              |  |
|         |         | Tea   | 6-15                           | 5 ml      | 10            | 9±3.2            | 3.8±0.9      | —        | 0          | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 5         | 15            | 7.7±2.3          | 3.8±0.4*     | 3.3±0.2* | 0.5±0.8*   | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 6-15                           | 20        | 27            | 3.1±4.6          | 3.4±0.6*     | 3.5±0.4* | 6.3±4.8*** | 0                    |              |  |
|         |         | Asp   | 6-15                           | 250       | 21            | 3.1±4.3          | 2.6±0.5***   | 3.0±0.2* | 7.1±5.6*** | 0.3±0.6*             |              |  |
|         |         | Art   | 2-6                            | 20        | 17            | 10±1.6           | 3.9±0.4*     | 3.0±0.2* | 0          | 0                    |              |  |
|         | Rabbits |       | Pea                            | 7-18      | 4 ml          | 4                | 9.8±2.1      | 42±11.6  | 8.5±0.9    | 0                    | 0.8±0.9      |  |
|         |         |       | Art                            | 7-18      | 0.7           | 2                | 9.5±2.1      | 36±6.2*  | 7.8±0.4*   | 1±1*                 | 0            |  |
|         |         | Art   | 7-18                           | 2.7       | 3             | 0.3±0.6          | 82           | 12.5     | 7±0***     | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 7-18                           | 5.4       | 3             | 0                | —            | —        | 9.3±2.1*** | 0                    |              |  |
|         |         | Art   | 7-18                           | 10.7      | 4             | 0                | —            | —        | 10±2.4***  | 0                    |              |  |

\*p&gt;0.05, \*\*p&lt;0.05, \*\*\*p&lt;0.001

**蒿甲醚对第二代胎鼠发育的影响** 孕小鼠 im 蒿甲醚 10.7 mg/kg, 连续 10 d, d 18 对照组与蒿甲醚组各解剖 10 只, 蒿甲醚组有 40% 胚胎被吸收, 有 60% 活胎。每组余下的各 30 只孕鼠待其自然产仔, 活存仔鼠(第一代)外观正常, 活动自如, 行为均与对照组无差异。于出生后 d 25 称重分笼, 对照组为  $13.7 \pm 2.6$  g, 蒿甲醚组为  $13.8 \pm 2.2$  g, 二组无显著差异 ( $p > 0.05$ )。出生后 d 50-60, 体重 24-30 g 同组内进行交配, 第一代仔鼠怀孕后(不给药), d 18 解剖孕鼠检测其胎鼠(第二代), 对照组和给药组胎鼠分别是  $10 \pm 2.4$  和  $11 \pm 2.8$ ; 胎鼠体重分别是  $1.3 \pm 0.6$  g 和  $1.5 \pm 0.1$  g; 分别有 2% 和 3% 胚胎被吸收, 给药组与对照组均无明显差异。

## 讨 论

蒿甲醚在动物的组织器官形成期给药, 在低剂量时对小鼠, 大鼠和兔胎仔无不良影响, 而剂量稍高(鼠 im 10.7 mg/kg, 兔 im 2.7 mg/kg) 胚胎吸收数就明显增加, 活存胎鼠和胎兔发育良好。小鼠 im 10.7 mg/kg, 30% 胚胎被吸收与对照相比差异显著 ( $p < 0.05$ ), 当剂量增大到 21.4 mg/kg 时 100% 胚胎被吸收。可见胚胎吸收的%和剂量相关, 这种和剂量的依从关系从大鼠和兔的实验结果亦已清楚表明(表 1)。说明给药组胚胎吸收%的明显增加是蒿甲醚所致。个别动物胎仔有晚期死胎与对照组相比差异不显著 ( $p > 0.05$ )。蒿甲醚各剂量组胎仔未见内脏及外观畸形, 偶尔有趾骨和胸骨第二第五枚缺少, 但与对照组比无显著差异 ( $p > 0.05$ ), 可考虑为自然发生率。

小鼠于受孕后不同时间给蒿甲醚的实验结果, 说明胚胎吸收的发生%除和剂量相关还和孕期给药时间有关, 小鼠孕后 d 9-11 给药可能影响最大。

药物能使胚胎死亡吸收和致畸性之间到底

有无连系? 目前尚缺乏直接证明。一般说由于胚胎发育快及其代谢上的特征, 尤其在器官形成期, 胚胎对于一些有害于机体的因素较母体为敏感, 这时给予母体有一定毒性的药物, 就可使胚胎较先中毒, 导致一些胚胎的发育中止、死亡而被吸收, 这样与通常的中毒死亡的各种可能机理类似, 无何特殊; 若是由于药物对于胚胎的某种器官、组织有选择性影响, 致使发育后的胎仔的局部器官、组织发育不足、缺失或过度, 如影响的是致命性器官且严重时, 也使胚胎发育为致死性异常, 后被吸收, 这时与以上所说中毒性胚胎的死亡, 被吸收的表现难以区别。作者认为有鉴别价值的是: 中毒性胚胎的死亡后被吸收, 通常同胎幸存的胎仔没有解剖学上特殊, 虽然可以有营养情况稍差, 体重稍轻, 有时某些骨(如胸骨、枕骨等)的骨化过程延迟, 但不发生畸形; 若是药物对胚胎器官有选择性特异影响, 就会导致同胎幸存胎仔的解剖学上异常, 出现畸态。本实验结果表明蒿甲醚对胚胎的影响属于前者。蒿甲醚在 10.7 mg/kg 对小鼠引起 40% 的胚胎死亡被吸收的情况下, 其余的活产仔鼠生长, 发育良好, 而且其第二代仔鼠也都活跃, 未见有解剖学上的异常。这些都支持蒿甲醚对实验动物没有致畸作用。

## 参 考 文 献

- 1 李英、虞佩琳、陈一心, 等. 科学通报 1979, 24:667
- 2 顾浩明、吕宝芬、瞿志祥. 中国药理学报 1980, 1:48
- 3 顾浩明、刘明章、吕宝芬, 等. 同上 1981, 2:138
- 4 张庆浩、梁友信. 化学物质致畸胎性的检测方法. 《工业毒理学实验方法》编写组. 工业毒理学实验方法. 第 1 版. 上海: 上海科技出版社, 1978, 245-53
- 5 Kimmel CA. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 40: 299
- 6 上海第一医学院、中国医学科学院卫生研究所. 食品毒理. 第 1 版. 上海: 人民卫生出版社, 1978, 23-7

## EMBRYOTOXICITY AND TERATOGENICITY STUDIES ON ARTEMETHER IN MICE, RATS AND RABBITS

CHEN Li-juan, WANG Mei-ying, SUN Wei-kang, LIU Ming-zhang

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** Artemether (methyl-dihydro-artemisinin) is a new antimalarial agent derived from qinghaosu (artemisinin). When the mice were given im 0.7 or 5.4 mg/kg/d on d 6-15 of gestation, no adverse effects on the fetuses were seen. At 10.7 and 21.4 mg/kg/d, 30% and 100% of the embryos were resorbed, respectively, while the surviving fetuses remained normal. Their second generations appeared to be normal. In rats with a dose of 21.4 mg/kg/d on d 9-11, all embryos were resorbed. The

embryotoxicity of artemether in rats and rabbits was similar to that in mice. No teratogenic effects were observed in mice, rats and rabbits.

Parallel experiments in rats with aspirin 250 mg/kg/d showed that 66% of the embryos were resorbed and 36% of the remaining fetuses exhibited external malformations ( $p < 0.01$ ).

**KEY WORDS** artemether; aspirin; fetal resorption; mice; rats; rabbits