

小鼠灌服二巯基丁二酸整体放射自显影的定位分布¹

梁猷毅、张建时 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

Whole body autoradiographic localization of dimercaptosuccinic acid *per os* in mice¹

LIANG You-Yi, ZHANG Jian-Shi (*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*)

ABSTRACT Dimercapto [¹⁴C]succinic acid ([¹⁴C]DMSA) was given to ♂ mice by ig 233 kBq. The mice were sacrificed by immersion in dry ice/hexane at 1, 3, 9 and 24 h. The distribution and concentration of [¹⁴C]DMSA were observed and analysed by whole-body autoradiograph. Higher concentration appeared in oral cavity, esophagus, gastrointestinal contents, liver, kidney and urine at 1 or 3 h. A moderate concentration was seen in blood, bone and skin. A remarkable reduction of radioactivity was found in liver at 9 h, but GI contents, Harderian gland, kidney and urine retained intense distribution. The results indicated that DMSA absorbed rapidly *per os* and was eliminated by kidney within 24 h. No tissue had a pronounced retention of the [¹⁴C]DMSA.

KEY WORDS dimercaptosuccinic acid; tissue distribution; autoradiography

提要 小鼠 ig [¹⁴C]二巯基丁二酸([¹⁴C]DMSA) 233 kBq/鼠。在 1, 3, 9 和 24 h 浸入干冰己烷混合液杀死, 用整体自显影术观察分析 [¹⁴C]DMSA 分布。1, 3 h 口腔、食道、胃、肠、肝、肾和尿中 [¹⁴C]DMSA 浓度高, 血、骨和皮肤则有中等分布。9 h 副泪腺、肠、肾和尿 [¹⁴C]DMSA 浓度较高, 肝则明显降低。以上结果表明, DMSA 吸收很快, 主要从肾排出, 24 h 在体内 [¹⁴C]DMSA 浓度很低。

关键词 二巯基丁二酸; 组织分布; 放射自显影术

Received 1990 Jun 8

Accepted 1990 Dec 6

¹ Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 3861047

目前国内外治疗金属中毒尚无理想的口服药物。我们经过多年研究, 制成金属解毒口服药二巯基丁二酸(DMSA)。这对慢性金属中毒和铜代谢引起的肝豆状核变性等疾病治疗以及对职业病的防治, 提供了一种在使用上更为方便、安全和经济的新药。

DMSA 是含有双 SH 的螯合剂, 动物实验和临床应用均证实对铅、汞、铜和砷等有解毒促排效果⁽¹⁻⁵⁾。此药毒性低, 对胃肠道无明显刺激, 是理想的金属解毒口服药物。

为进一步查明此药在体内吸收和分布变化, 我们用整体放射自显影术, 进行定位分布观察。

MATERIALS AND METHODS

meso-2,3-Dimercapto[¹⁴C]succinic acid ([¹⁴C]DMSA)系 Pathfinder Laboratories (St Louis MO, USA) 产品, 比放射性为 514 MBq · mol⁻¹ 用 1.5% CMC 配制成混悬液供小鼠灌胃(ig)。

整体切片采用美国 Lipshaw Cryotome 1800-N 型整体冰冻切片机。

感光片系 LKB Ultrofilm S-161 25 Bromma, Sweden 出品。

杂种 ♂ 小鼠共 4 只体重均为 26 g。

小鼠 ig [¹⁴C]DMSA 233 kBq/鼠。分别在 ig 后 1, 3, 9 和 24 h 后用乙醚对小鼠作轻度麻醉情况下浸入己烷和干冰混合液(-70℃)中快速冻结 15 min 取出去掉部分小鼠毛、剪去四肢和尾后, 用 1.5% CMC 在金属盒内固定包埋⁽⁶⁾。在 -20℃ 制成 20 μm 厚切片, 冰冻干燥 5 d 后取出不同部位切片 16 张在暗室中将切片和感光片对贴, 在 4℃ 冰箱中进行曝

光. ig 1 h 曝光 22 wk, 3 h 曝光 19 wk, 9 h 曝光 28 wk, 24h 曝光 37 wk. 曝光后将感光片取下进行显影(D-19b) 5 min, 定影(F-5) 20 min, 水洗 30 min, 干燥. 根据感光片产生不同的黑度, 放制成照片. 照片白色部分表示放射性强度.

RESULTS

小鼠 ig [¹⁴C]DMSA 后 1 h 迅速分布于各脏器中, 以口腔、胃、肠粘膜、肠内容物、肝和肾放射性浓度最高, 血、肺、骨和皮肤为中等浓度. 3 h 口腔、食道、胃、肠粘膜、肠内容物、肾和尿放射性浓度高. 其次为肝和骨. 血、唾液腺体、肺和皮肤则较低. 9 h 鼠口腔、肠粘膜、肠内容物、副泪腺、肾和尿放射性浓度较高, 唾液腺体、肝和骨中等. ig [¹⁴C]DMSA 后 24 h 鼠中肠粘膜、肠内容物、副泪腺、肝、骨和皮肤放射性浓度均低 (Plate 1).

骨主要分布在骨膜和骨皮质, 有中等放射性浓度, 在 1, 3 和 9 h 颅骨、胸骨、肋骨、脊椎骨和盆骨均能明显见到. 至 24 h 骨放射性浓度已很低. 唾液腺体在 1 h 就出现放射性, 以后浓度逐渐增高, 9 h 时为最高. 24 h 时基本消失. 脑、脾脏和肌肉是放射性浓度最低的组织. 在 1, 3, 9 和 24 h 基本无放射性存在.

在给 [¹⁴C]DMSA 后 4 个不同时间中 [¹⁴C]DMSA 组织分布浓度依次为胃、肠粘膜、肠内容物、肾、肝、血和肺并随时间的延迟有规律地下降, 在 24 h 胃、肠粘膜、肠内容物、肝和肾放射性浓度均很低, 此外有些组织如血和肺放射性基本消失.

DISCUSSION

本工作用整体放射自显影术观察 [¹⁴C]DMSA 分布, 可以准确看到药物在小鼠体内定位和分布, 通过黑度计测量还可得出进

一步定量计数, 将不同组织取出可以做更准确的液闪测定 [¹⁴C]DMSA. 它的优点还可以观察到 [¹⁴C]DMSA 在较小组织的定位分布.

ig [¹⁴C]DMSA 1 h 肝、肾和尿中 [¹⁴C]DMSA 已很高. 表明药物吸收很快, 这和家兔 ig DMSA 后血中 SH 浓度 0.5 h 达到高峰⁽²⁾相近. 肝放射性浓度比肺高很多, 这一差异和静脉注射 [¹⁴C]DMSA⁽⁷⁾不同, 可能是 ig [¹⁴C]DMSA 后, 药物主要从肠道吸收后累积在肝中. 尿和肾放射性浓度在不同时间都高, 表明药物主要经肾从尿中排出. 口腔、食道和肠内放射性浓度很高, 这可能有 4 方面因素, 1)是尚未完全吸收的 [¹⁴C]DMSA, 2)是吸收后经胆道排出的代谢物, 3)是小鼠舔食自身排出含有高浓度放射性尿液, 4)是唾液分泌所致.

ACKNOWLEDGMENT Meso-2,3-dimercapto [U-¹⁴C]succinic acid was kindly provided by Prof William J Waddell, University of Louisville, USA

REFERENCES

- 1 Shi JM, Chen LX, Ting KS. Lead-eliminating effect of sodium dimercaptosuccinate in Pb-poisoned rabbits. *Zhonghua Yixue Zazhi* 1977; 57 : 299
- 2 Liang YY, Shi JM, Chen LX, Ding GS. Dimercaptosuccinic acid per os promoted the excretions of Pb, Cu, Sb, Sr, Tl, and Pm. *Acta Pharm Sin* 1980; 15 : 335
- 3 二巯丁二酸治疗铅中毒协作组. 口服二巯丁二酸治疗铅中毒的临床研究. *中国工业医学杂志* 1989; 1 : 10
- 4 倪为民, 冯玉妹, 许建文, 等. 口服二巯基丁二酸治疗铅中毒的研究. *职业医学* 1989; 16 : 12
- 5 Lenz K, Hruby K, Druml W, Eder A, Gaszner A. 2,3-Dimercaptosuccinic acid in human arsenic poisoning. *Arch Toxicol* 1981; 47 : 241
- 6 Waddell WJ, Marlowe C. Autoradiography. In: Garrett ER, Hirtz JL, eds. *Drug fate and metabolism: methods and techniques*; vol 1. 1st ed. NY: Marcel Dekker, 1977 : 1-25
- 7 Liang YY, Marlowe C, Waddell WJ. Disposition of [¹⁴C]dimercaptosuccinic acid in mice. *Fundam Appl Toxicol* 1986; 6 : 532