

土贝母甙甲在动物体内的吸收、分布、代谢和排泄

陕西省卫生学校(西安710068) 王永清* 于立坚** 马润娣** 姜凤良 陈 萍**

摘要 土贝母甙甲是从土贝母块茎中分离出来的,具有强抗癌和抗促癌活性的巨环三萜皂甙。本文研究其在动物体内吸收、分布、代谢和排泄的特点。

关键词 土贝母甙甲 吸收 分布 代谢 排泄

从土贝母块茎中分离出的土贝母甙甲(下称甙甲)具有强抗癌和抗促癌活性,毒性低[1~3]。对慢性宫颈炎疗效理想,对宫颈肥大增生效果尤好。基于前文已报告的甙甲定量分析方法[4],我们对其在动物体内的吸收、分布、代谢和排泄规律进行了研究。

1 材料

仪器:分光光度计、日本岛津UV-265FW。微量进样器,上海注射器三厂。

动物:陕西省中医药研究院动物室提供。NIH小鼠,体重18~24g;封闭群SD大鼠,体重150~250g,雌雄兼有。

甙甲:本室提取分离,临用时配成所需浓度的水溶液。实验中其他化学试剂皆为分析纯。

2 方法与结果

2.1 生物样品甙甲分离条件的探索:先后用不同浓度的三氯醋酸,各种试剂处理组织匀浆。实验结果表明,各种组织研成1:3匀浆后,加匀浆3倍体积的甲醇,振摇5min,4000r/min离心10min,取上清液蒸干后层析,是从生物样品中分离甙甲的较好条件。

给动物注射不同剂量甙甲,在一定的时间取组织匀浆、分离、层析、确定最佳用药剂量。结果表明,肌肉注射以60mg/kg,静脉注射30mg/kg为宜。

2.2 生物样品中甙甲的分离测定

2.2.1 提取、分离及测定方法:将生物样品心、肝、脾、肺、肾和脑组织1g分别研成1:3匀浆。另取血浆1ml,尿液1ml。按前述方法处理样品,用微量进样器加入50 μ l甲醇,振摇,取10 μ l甲醇溶液点于硅胶G层析板上,以氯仿-甲醇-水(50:27:7)(下层)的混合溶剂为展开剂,常规层析。碘蒸气显色后,划出甙甲斑点。待退色后,刮下甙甲斑点处硅胶转移到带塞磨口试管中。同时在薄层板上他处刮下甙甲斑点面积相同的硅胶作空白。给各试管加入10%香草醛冰醋酸溶液0.2ml,高氯酸0.4ml,摇匀,密塞,放恒温水浴中,90 $^{\circ}$ C加热10min,取出后,立即置水中冷却。将试管保持在15~20 $^{\circ}$ C条件下,加冰醋酸4.0ml,摇匀。同法作空白。经4000r/min离心10min,取上清液于474nm处测定吸收率。

2.2.2. 标准曲线及回收率:将不同浓度的甙甲加入对照大鼠血浆和尿液中,提取和测定方法同前,以浓度对吸收度绘制甙甲在血浆和尿中回收的标准曲线(见图1)。变数经处理,呈直线相关,相关系数r分别为0.9903和0.9975。甙甲在血浆中及尿中的平均回收百分率分别为80.75%和85.06%。

2.3 组织分布:20只小鼠,肌注甙甲(60mg/kg)。1h后处死,取各组织研成匀浆(10只动物的组织匀浆作为一个样品),提取分离测定甙甲含量。4只大鼠,肌注60mg/kg甙甲,1h后死处,取各组织研成匀浆(2只动物的组织匀浆作为一个样品),结果见图2,甙甲肌注后

*Address: Wang Yongqing, Shanxi Provincial Health School, Xi-an

**陕西省中医药研究院生化研究室

在肝和脾内含量较高，血、肺和心次之，肾和脑较低。

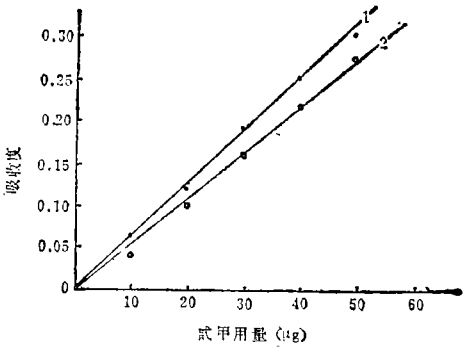


图1 自大鼠血浆和尿液中回收22标准曲线
1-尿 2-血浆

2.4 22与血浆蛋白及组织蛋白的结合率：用平衡透析法测定。大鼠血浆与pH7.2，0.154mol/L缓冲液按1：4稀释，肝肾组织

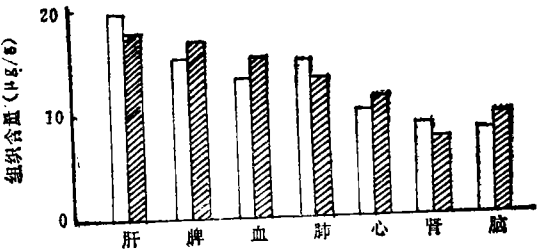


图2 22肌肉注射1h后在小鼠、大鼠体内的分布
□大鼠肌注后1h ▨小鼠肌注后1h

以上述缓冲液制成1：5匀浆。缓冲液中每12ml内加入22 200μg。每种组织及血浆同法作2份。将透析装置放在迴旋式振荡器上振荡透析4h，再静置透析12h以达到平衡。分别测定半透膜内外22的含量，计算22与蛋白结合的百分数。结果表明，22与血浆、肝及肾组织蛋白结合率分别为17.10%、28.1%和20.35%。

2.5 药物从胃肠道的消失：小鼠14只，分别以22 100mg/kg灌胃，于给药后不同时间各处死2只小鼠。取出全部胃肠道及内容物，制成匀浆。同法作空白对照，测定残存于消化道及内容物中的药物含量。以给药后即刻处死动物，测定胃肠中22的回收率为100%，给药后0.5，1、2、4、8、12h的回收百分率见图3。22从胃肠道消失较快，在灌胃后0.5、1、2、4、8、12h的回收率分别为91.80%、81.96%、60.66%、40.98%、18.03%和0。

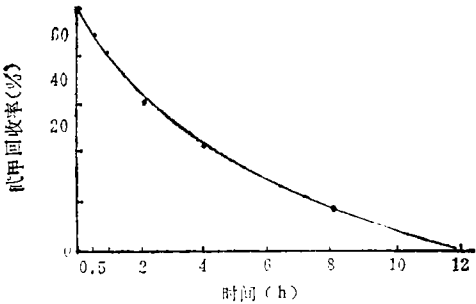


图3 22自胃肠道的消失

可见22在孵育后的胃及小肠中的回收百分率较低，提示22在胃肠道受到一定程度的破坏，尤其是在孵育后的胃中较明显。

2.6 排泄：取10只小鼠，按60mg/kg肌注22后，取胆汁，收集尿液（5只小鼠的标本混匀作为一个样品），测定22含量。层析结果显示，在胆汁和尿液中无22。推测22可能以代谢产物的形式从尿液或胆汁中排泄。

3 讨论

薄层层析光谱法分离及测定生物样品中22含量的方法能区分其原形物及代谢产物，特异性较高。

为了探讨22在胃肠道是否被破坏，进行了离体胃肠道孵育实验。取小鼠6只，随机分为2组。于禁食12h后处死，迅速取出胃及8cm小肠。分别结扎两端后，注入22 0.5mg的溶液，置入装有5ml氧饱和Krebs氏液的培养皿中。37℃振荡孵育2h。对照组室温放置。将胃及肠道同孵育液一起制成匀浆，测定22的回收率。以对照组为100%胃平均回收为66.93%，小肠平均回收89.03%，可

小鼠口服貳甲后, 药物从胃肠道消失较快。离体胃及小肠孵育实验结果提示, 貳甲在胃肠道受到一定程度的破坏, 尤其是在胃中。这与貳甲灌胃所显示的抗瘤效果较低的实验结果相一致。

药物与血浆蛋白的结合程度, 对其在体内分布、代谢等影响颇大。貳甲与血浆蛋白结合率较低, 易从血液内消失, 因而不易产生蓄积毒性作用。貳甲在体内的分布广, 但在肝、脾、血和肺等组织或器官内含量高, 这样分布的相对特异性为我们使用貳甲来治疗肿瘤提供了条件。貳甲在心、肾和脑内的含量低, 这一特点有利于减少它对这些器官的副作用。

参 考 文 献

- 1 Yu L J, et al. Thesis Selection, International Scientific Conference on Traditional Chinese Medicine, Shenyang, China: 1991. 740
- 2 马润娣, 等. 科学通报, 1991, 36: 1421
- 3 Yu L J, et al. Int J Cancer, 1992, 50: 63
- 4 王永清, 等. 中国中药杂志, 1993, 18(6): 355
(1992-02-10收稿, 1993-08-07修回)

(上接第250页)

3.2 化学成分研究结果表明, 中华槲蕨和槲蕨根茎所含的黄酮类成分不同, 总黄酮含量也有显著差异。对于其化学成分与疗效间的关系, 有待进一步研究。

3.3 本实验采用大鼠后腿股骨下端制作骨损模型, 并利用四环素与新生骨结合产生荧光的特性辅助进行效果判别, 实验证明本模型具有制作简便、实验周期短、结果可靠等优点。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典, 上海: 上海人民出版社, 1979. 1658
- 2 广西医学院耳鼻喉科. 新医学, 1977, 8(4-5): 168
- 3 王维信, 等. 中国药学会庆祝建会80周年学术会议. 1987. 06-k-2
- 4 赵湘洪, 等. 中药通报, 1987, 12(10): 41
(1993-04-02收稿)

山番荔枝中的细胞毒生物碱

Wu Yangchang, et al. Phytochem, 1993, 33(2): 497

山番荔枝 *Annona montana* 为一种常绿小树, 原产印度和巴西, 后移植到我国台湾。其中有多种生物碱, 其甲醇提取物在体外筛选中对人KB细胞、A-549肺癌、HT-29结肠癌细胞及鼠类P-388及L-1210白血病有细胞毒作用。今报道从该提取物中分得1个新非类生物碱, 定名annoretine, $C_{19}H_{19}NO_2$, 油状物经光谱及化学分析证明其为3-羟基-4-甲氧基-N-甲基-四氢吡啶(4, 3-a)菲(I), 见图。

本品对KB细胞、P-388、A-549及HT-29等细胞的 ED_{50} 分别为14.47、3.33、4.46及2.51 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

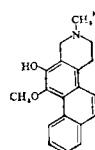


图 I 结构式

(史玉俊摘译)