

马蔺子甲素的药物动力学研究

天津药物研究院(300193) 李全胜* 高连用 刘昌孝

摘要 采用HPLC方法测定生物样品中的马蔺子甲素浓度。大鼠 ig 100、200 和 800 mg/kg 3 个剂量的药代动力学研究表明体内代谢非常快,血药浓度不呈线性消除特征,药物吸收非常迅速,消除快。达峰时间(t_{peak})分别为 30、30 和 15 min,浓度-时间曲线下的面积(AUC)分别为 100.1、3 238.1 和 4 509.9 ng·min/mL,半衰期($t_{1/2}$)分别为 66.6、101.9 和 133.3 min。组织分布试验表明,在大鼠 ig 200 mg/kg 后 1、2、4 h,心、肝、脾等组织测不出原型药物。排泄试验在大鼠 ig 200 mg/kg 后,36 h 内从粪中测不到原型药物及代谢产物,36 h 内测不出从尿中排出的原型药物;其代谢产物 12 h 内排出总量的 78% 以上,马蔺子甲素是一蛋白结合率非常高的药物,平均蛋白结合率为 90.9%。

关键词 马蔺子 马蔺子甲素 药物动力学 高效液相色谱

中药马蔺子为鸢尾科植物马蔺 *Iris pal-lasii* var. *chinensis* (Fisch) Koidz 的成熟种子,所含有的马蔺子甲素(irisquinone A)和马蔺子乙素(irisquinone B)是其重要化学成分,主要为马蔺子甲素。我们在生物分析方法研究[刘昌孝,等. 中草药,1998;29(8):533]基础上,研究了马蔺子甲素的药物动力学,观察药物在体内变化。

1 材料和仪器

1.1 试验药物:马蔺子甲素标准品由山东新华制药股份有限公司提供,含量 95%。马蔺子素,含马蔺子甲素 86%。内标物(IS)为盐酸氟桂嗪,含量 99%。

1.2 试剂:乙腈、甲醇,优级纯;正己烷、异丙醇,分析纯,均为天津化学试剂二厂产品。超纯水,本研究室自制。

1.3 仪器:日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,包括紫外检测器、柱温控制器、自动进样器、色谱数据处理器和中央控制单元。纯水器,Mill-Q II 型纯水器,日本 Millipore 公司产品。医用离心机,LD5-2A 型,北京医用仪器厂产品。混合器,KH-851 型,上海环宇仪器厂产品。高速组织均浆器,XHF-1 型,上海金达仪器厂产品。

1.4 动物:Wistar 大鼠,雌雄兼用,体重 150 g 左右,天津药物研究院动物室提供。

2 方法和结果

2.1 体内转化试验:每只大鼠给予 12 mg 马蔺子素后,在 0.5、1 及 2 h 处死,取出胃及小肠内容物,用三氯甲烷 10 mL 提取,提取液稀释后进样,测定消化道中马蔺子甲素的含量,见表 1。试验结果表明马蔺子甲素在胃中消除很快,给药后 0.5 h 胃中含药为给药量的 47.97%,到给药后 2 h 胃中仅含给药量的 1.88%。肠中基本测不到原型药物。

表 1 大鼠胃肠道转运试验($n=3$)

t (h)	0	0.5	1	2
胃中药量(μg)	12 000	5 757.3	1 871.0	226.0
含量(%)	100.0	47.97	15.59	1.88
肠中药量(μg)	0	0.7	0	0
含量(%)	0	0.0058	0	0

2.2 大鼠 ig 给药的药代动力学研究

2.2.1 给药剂量确定原则:设定大鼠 ig 100、200 和 800 mg/kg 3 个剂量组供药代动力学研究。其确定原则如下:1)根据药效学实验结果及新药审评办法的规定,设 100 和 200 mg/kg 剂量组,由于本品代谢很快,血药浓度很低,故在安全的基础上设 800 mg/kg 剂量组,以进一步阐明血药浓度与剂量的关

* Address: Li Quansheng, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin

系;2)本品 ig 给药 LD₅₀ 为 2.519 g/kg, 设定的最大剂量 800 mg/kg 仅为其 1/3;3)根据检测的灵敏度,药代的最小剂量不宜太低;4)按药代研究的技术要求,根据安全有效的原则,确定正常大鼠 1 次口服给药 100、200 和 800 mg/kg 3 个剂量进行药代试验。

2.2.2 试验程序和方法:大鼠 ig 马蔺子素 100、200 和 800 mg/kg 3 个剂量后 0、5、15、30、60、120、180 和 240 min 采血(各组的每一时间点 5 只动物),立即离心,分离出血浆,取血浆 1 mL,加入含有 50 μg/mL IS 50 μL 的试管中,再加入 5 mL 混合试剂(正己烷-异丙醇=95:5),振荡提取,离心分离出有机相 4 mL,在 60 °C 水浴中用氮气挥干。残留物加入 200 μL 流动相,振荡、溶解,进样 50 μL。如不能当即测定,样品干管将于 -18 °C 冰冻保存,直至分析处理。

2.2.3 血清药物浓度测定结果:见表 2。马蔺子素口服吸收非常快,在给药后 15 min~30 min 血药浓度最高,100、200 和 800 mg/kg 剂量组马蔺子甲素 C_{max} 分别为 1.1、24.3 和 40.0 ng/mL。

表 2 大鼠 ig 马蔺子素后的血药浓度 (ng/mL, n=5, $\bar{x} \pm s$)

t (min)	剂量 (mg/kg)		
	100	200	800
5	N	9.4 ± 6.0	12.8 ± 1.8
15	0.8 ± 0.2	22.2 ± 12.9	40.0 ± 12.0
30	1.1 ± 0.6	24.3 ± 8.7	31.4 ± 10.9
60	0.7 ± 0.4	15.7 ± 4.7	21.7 ± 8.6
120	0.4 ± 0.2	15.4 ± 3.9	16.2 ± 2.2
180	0.2	10.2 ± 1.8	15.4 ± 3.2
240	N	4.8 ± 4.4	9.0 ± 4.0

注:N 为测不出数据

2.2.4 药代动力学参数:用大鼠 ig 100、200 和 800 mg/kg 3 个剂量组的血药浓度-时间数据,由中国药理学学会数学药理专业委员会的 3P87 实用药代动力学计算程序自动拟合 c-t 曲线,所得药代参数见表 3。可见大鼠 ig 马蔺子甲素从消化道吸收迅速,吸收相半衰期短,达峰时间快。3 个剂量的 t_{peak} 分别为 30、30 和 15 min,平均滞留时间 MRT 基本不随剂量增加而增加,分别为 70.0、100 和

99 min,曲线下面积 AUC 随剂量增加而增大,但不成比例。半衰期随剂量增加而延长。

表 3 主要药代动力学参数

参数	单位	剂量 (mg/kg)		
		100	200	800
AUC _(0-t)	ng · min/mL	100.1	3 238.1	4 509.9
t _{peak}	min	30	30	15
MRT	min	70.05	100.39	99.73
C _{max}	ng/mL	1.1	24.3	40.0
K	1/min	0.0104	0.0068	0.0052
t _(1/2)	min	66.6	101.9	133.3

2.2.5 代谢产物的血药浓度:为进一步阐明马蔺子甲素的体内过程,用第 2 种流动相系统进行代谢产物测定。具体方法为:给药剂量 200 mg/kg,采血时间点同上,血清加入 2 倍量的乙腈,振荡,超速离心,取上清液 50 μL 直接进样测定。由于代谢产物结构未定,按相同条件下的马蔺子甲素测定效应进行归一化计算主要代谢产物浓度,其浓度远高于原型药物,结果见图 1,色谱图见图 2。

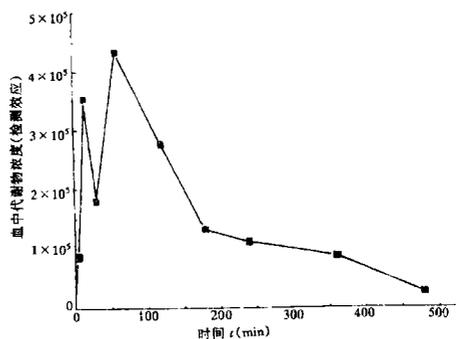


图 1 大鼠血中代谢物-时间关系曲线

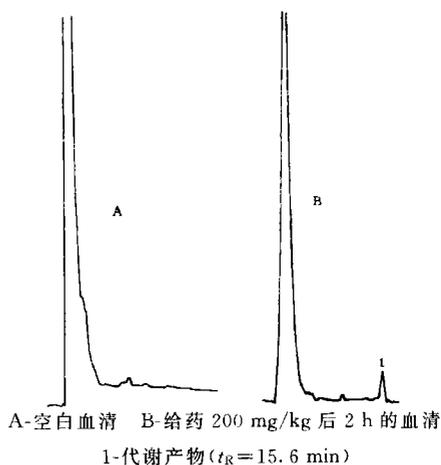


图 2 测定血清中马蔺子素代谢产物色谱图

2.3 组织分布:选择心、肝、脾等组织测定,方法为给药 200 mg/kg 后 1、2、4 h 取出组织,制成 20% 的匀浆按拟定测定方法测定药物含量。以不给药的相应组织匀浆作为空白。大鼠 1 次 ig 马蔺子素 200 mg/kg 后,在 1、2、4 h 各组织均测不出原型药物。

2.4 尿粪排泄:Wistar 大鼠 5 只置于代谢笼中,收集给药前的尿和粪作为空白,然后 ig 马蔺子素 200 mg/kg,给药容量为 1 mL/100 g 体重,收集给药后 0~2 h、2h~4 h、4 h~8 h、8 h~12 h、12 h~24 h、24 h~36 h 尿和粪样本。尿样按一定比例稀释用拟定提取方法提取后测定药物含量。粪用适量水做成混悬液,离心后,取上清液按拟定提取方法提取后测定药物含量。

2.4.1 尿排泄:在 0~36 h 内,测不到原型药物从尿液中排出。从 HPLC 图上发现有保留时间分别为 13.4、18.3 和 21.3 min 的 3 个代谢产物 M₁、M₂、M₃(图 3),其代谢产物在 2 h~4 h 排泄速率最大。代谢产物主要在给药后 12 h 内由尿排泄,占排泄总量的 78% 以上。若按归一化法处理,36 h 内这 3 个代谢物的排泄总量约占给药剂量的 34%。说明尿是马蔺子素的主要排泄途径,且排泄较快,见表 4。由于 3 种主要代谢物结构有待确证,没有进行定量测定,表 4 数据仅以测定效应来表示。另还有 2 个代谢产物 N₁ 和 N₂,由于受内源性物质(尿中成分)干扰,难以确定。

表 4 大鼠 ig 马蔺子素 200 mg/kg 后尿排泄结果

t (h)	尿排泄量 (测定效应) × 10 ³			累积尿排泄量 (测定效应) × 10 ³
	M ₁	M ₂	M ₃	
0~2	289	3 068	279	3 636
2~4	3 938	3 525	2 300	13 399
4~8	10 739	1 028	2 852	28 018
8~12	1 874	1 138	1 545	32 515
12~24	3 139	3 051	828	39 599
24~36	326	1 681	980	41 580

2.4.2 粪排泄:大鼠 ig 马蔺子素 200 mg/kg 后,收集不同时间区间的粪样品,测定药物的粪排泄量,结果无论原型药物还是代谢产物均测不出来。

2.5 蛋白结合:采用平衡透析法测定马蔺子素的蛋白结合率,装置由用半透膜分隔成两室的平衡透析池组成。以 1/15 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.2)为一侧(A 侧),另一侧(B 侧)注入大鼠血清含有不同浓度的马蔺子素,两侧容量均为 10 mL。3 种药物浓度为 200、500 和 1 000 ng/mL,每个浓度作 5 个样本试验。加入试药后,将平衡透析池置于 4 ℃ 冰箱中放置 48 h。取 A 侧透析液用 HPLC 方法测定药物浓度,然后用以下公式计算不同浓度水平的药物蛋白结合率。

$$\text{蛋白结合率} = \frac{\text{总浓度} - \text{总游离浓度}}{\text{总浓度}} \times 100\%$$

试验结果见表 5。在此 3 种浓度下马蔺子素的平均蛋白结合率为(90.6 ± 1.46)%。

表 5 马蔺子素的蛋白结合率

总浓度 (C _t , ng/mL)	游离浓度 (C _f , ng/mL)	蛋白结合率 (%)
200	9.9 ± 8.9	90.1 ± 8.9
500	28.1 ± 7.1	89.4 ± 6.0
1000	34.0 ± 5.0	93.2 ± 4.5

3 讨论

采用大鼠 ig 给药进行马蔺子素的药代动力学研究。本研究所测定的原型药物均为马蔺子甲素,其药代动力学特征可归纳为以下几点:1)马蔺子甲素的体内外代谢非常快,原型药物的血药浓度非常低,由于化学结构有待证明,尚无代谢产物的标准品,只能测定其代谢产物的相对含量。其原型药的药代动力学特点为:平均驻留时间 MRT 并未随剂量增加而变化;峰浓度和浓度-时间曲线下的

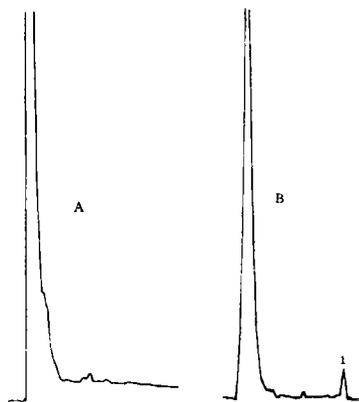


图 3 测定尿中马蔺子素代谢产物色谱图

面积随剂量增加而增加,但没有相关性;半衰期随剂量增加而延长。2)在 100 mg/kg 剂量组由于各时间点浓度低于检测灵敏度,为方便检测,是采用浓缩后的测定液进行分析,用外标法计算的。可能与实验浓度有一定差异。3)本品蛋白结合率高,平均达 90.9%,这可能导致其血药浓度极低,也可能有利于药物在肿瘤部位的聚集,有利于发挥疗效。4)排泄试验表明马蔺子甲素主要经尿排泄,虽然在

36 h 内从尿中排出的原型药物测不出来,初步确定尿中存在至少 3 种代谢产物,代谢产物由尿排出也有一定规律;粪中无论原型药还是代谢产物均测不出来。5)胃肠道转运试验表明本品主要经胃吸收,且吸收较快。6)醌类化合物为不稳定的化合物,在体内均被酶还原生成酚类化合物,再进一步代谢和消除,其代谢产物有待研究确证其化学结构。

(1998-03-31 收稿)

Pharmacokinetics of Irisquinone A in Rat

Li Quansheng, Gao Lianying and Liu Changxiao (Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, State Pharmaceutical Administration of China, Tianjin, 300193)

Abstract Pharmacokinetics of irisquinone A was studied in rat. After oral administration, it was rapidly absorbed and eliminated. At doses of 100, 200 and 800 mg/kg, the t_{peak} were 30, 30 and 15 min; C_{max} 1.1, 24.3 and 40 ng/mL; AUC 100.1, 3238.1 and 4509.9 ng · min/ml and $t_{1/2}$ 66.6, 101.9 and 133.3 min respectively. At 1, 2 and 4 h following ig dose, the original form of the drug could not be detected in heart, liver and spleen, nor in urine and faeces after 36 h. More than 78% of the total metabolites were excreted from urine within 12 h. The protein binding ratio was 90.9%.

Key words *Iris pallasii* Fisch. var. *chinensis* Fisch irisquinone A

骆驼蓬总碱抗肿瘤及其协同抗癌作用[△]

中山医科大学肿瘤研究所(广州 510060) 杨小平* 潘启超 谢冰芬 李春杰

摘要 用小鼠移植性肿瘤和裸鼠异体移植人肿瘤模型研究骆驼蓬总碱(TAH)抗肿瘤作用及其协同抗癌作用。结果表明:TAH 对小鼠 S-180、L₁、肝癌以及裸鼠移植人鼻咽癌(CNE2)和人(BEL-7402)肝癌均有抗肿瘤作用,并发现 TAH 与顺铂(DDP)或阿霉素(ADM)合用,具有协同抗肿瘤作用。

关键词 骆驼蓬总碱 抗肿瘤作用 增效作用

已经证明骆驼蓬混合生物碱及一吡啶生物碱有抗肿瘤作用^[1,2]。新疆医学院附属第二人民医院药剂科从骆驼蓬种子中提取骆驼蓬总碱。并用于治疗消化道肿瘤,认为有一定疗效^[3]。我们应用小鼠移植性肿瘤和裸鼠异体

移植人肿瘤研究骆驼蓬总碱的抗肿瘤作用及其与抗癌药顺铂和阿霉素合用的协同抗癌作用。

1 材料和方法

1.1 药物:骆驼蓬总碱盐酸盐,含量为

* Address: Yang Xiaoping, Cancer Institute, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou

杨小平 1967年毕业于北京医科大学医疗系,学士,副研究员。研究方向:肿瘤药理。已发表文章40余篇。1980年参加“广谱抗肿瘤抗生素——平阳霉素”获国家科委发明奖二等奖;1993年参加“骆驼蓬抗癌作用研究”获广东省医药科技进步二等奖;1997年参加“携带EB病毒的鼻咽癌裸鼠移植瘤及相应体处细胞株的建立、特性研究及其应用”获广东省医药科技进步三等奖。

[△]国家自然科学基金资助项目