

^3H -天麻素在大鼠体内的吸收、分布、代谢和排泄

陆光伟 邹元杰 莫启忠

(上海中医学院)

提要 大鼠口服 ^3H -天麻素后,胃肠道放射性消失很快,8h仅剩给药后即刻放射性的1.1%。口服后5min血中放射性已有较高水平,50min左右达高峰。静注或口服后,组织放射性均以肾最高。肝、肺、子宫其次。脑中放射性较低,但变化不同于其他组织,2h达高峰。天麻素血浆蛋白结合率为4.3%,其甙元(对羟基苯甲醇)为69.3%。天麻素在体内主要代谢物是甙元。口服后放射性主要从尿排泄。口服后24h内从尿、粪和胆汁排出的总放射性分别为剂量的66.1,0.63和3.06%

关键词 ^3H -天麻素

天麻素是中药天麻的主要活性成分^(1,2)。药理实验证明,天麻素及其甙元具有镇静、安眠和镇痛等中枢抑制作用^(3,4)毒性低,副作用小。合成天麻素已用于临床,治疗神经衰弱、神衰综合症及血管神经性头痛有显著效果^(5,6)。本文报告 ^3H -天麻素在大鼠体内的吸收、分布、代谢和排泄。

材 料 和 方 法

(一) 动物 雌性 Sprague-Dawley 系大白鼠,由中国科学院上海细胞生物研究所提供。体重 152 ± 12 g。胆汁排泄实验用 216 ± 11 g。整体动物放射自显影用 20 ± 1 g 小鼠。口服给药前,禁食12h。自由饮水。

(二) 主要药品和试剂 1. 合成天麻素由昆明制药厂提供。经板层析鉴定为一个斑点。2. 对羟基苯甲醇(天麻甙元)按文献⁽⁷⁾方法合成。3. ^3H -天麻素由中国科学院上海原子核研究所用化学还原法制备。标记位置在甙元的苜基上。比放射性为 4.57 Ci/mM, 放化纯度 $>95\%$ 。实验按 1 mCi/kg 给药,并加以未标记天麻素,剂量为 50 mg/kg。

(三) 生物样品的制备

1. 血、胆汁及尿 自大鼠尾端取血 $20\mu\text{l}$,置测量杯中,加消化液(高氯酸—30%过氧化氢=1:2)0.3 ml,于 80°C 水浴消化1h,冷却,待测。胆汁和尿用水稀释定量后,分别取0.2 ml和0.1 ml于测量杯中,待测。

2. 组织及粪便 大鼠内脏经生理盐水冲洗后用滤纸吸干,各称取100mg左右。粪便烘干后,称重并研成粉末,称取30mg左右。各样品中加消化液0.6ml,消化后冷却待测。

3. 胃肠道及内容物 处死大鼠后,迅速取出全部胃肠道及内容物,剪碎,用95%乙醇150 ml提取3次。合并上清液,稀释至刻度,取0.5 ml测量。

4. 尿中甙元提取 取尿液0.5ml,加乙醚4 ml提取。取醚液1 ml测量。回收率90.5%。醚提液经层析鉴定为一个斑点, Rf值与标准甙元相同。

5. 代谢物鉴定 取全血加三氯醋酸沉淀蛋白,吸出上清液。脑组织加生理盐水(1:4)匀浆。上清液、脑匀浆、尿和胆汁分别用乙酸乙酯提取几次。合并提取液。在 80°C 水浴于氮气

流下蒸干。残渣用少量甲醇溶解，经硅胶板层析分离。另用合成天麻素和甙元平行展开，展开剂为氯仿-甲醇=3:1，10%磷酸钼乙醇溶液显色。分段刮下硅胶，置测量杯中，加0.5ml甲醇溶解，待测。胃肠道醇提液经浓缩后，直接点样，展开，分段刮下硅胶，待测。

(四) 测定方法

称取 2.5 g 对三联苯溶于 500 ml 甲苯中，配成闪烁液。每个样品加乙二醇乙醚 5 ml，闪烁液 4 ml。用国产 FJ-2100 液体闪烁计数器测量，仪器效率 50%。样品用外道比法校正。

(4.4×10^4 dpm = 1 μ g 天麻素)

(五) 整体动物放射自显影

取雌性小鼠 2 只，每只尾静脉注射 ^3H -天麻素 100 μCi ，分别于注射后 15 min 和 2 h 冷冻、切片⁽⁸⁾，用 X 光片(表面未涂明胶)在低温暗盒内曝光 70 天，进行显影定影处理。

结 果

(一) 放射性自胃肠道的消失

大鼠 21 只，分 7 组。口服给药后于 0, 10, 30 min 和 1, 2, 4, 8 h 分别处死。取出胃肠道及内容物，提取后测定放射性。把即刻处死一组的放射性作为 100%，以胃肠道放射性消失百分率的对数对时间作图，结果见图 1。

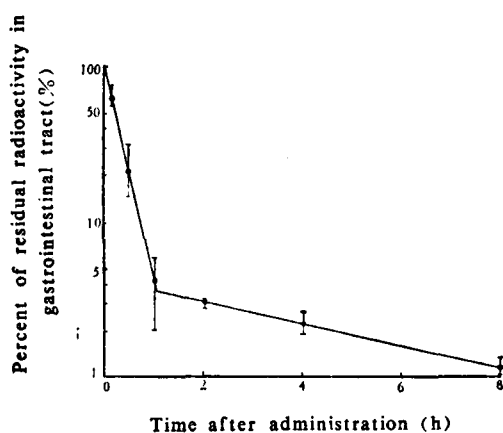


Fig 1. Elimination of radioactivity from gastrointestinal tract of rats after oral administration of ^3H -gastrodin. Data are plotted as $\bar{X} \pm \text{SD}$ (n=3)

在给药后 1 h 内，放射性自胃肠道消失速率常数为 3.25 h^{-1} ，1h 胃肠道残存放射性仅 4%。1 h 后消失速率常数为 0.17 h^{-1} 。

(二) 血中放射性变化

1. 静注 大鼠 5 只，自尾静脉给药后，于 1, 5, 10, 30 min 和 1, 1.5, 2, 4 及 8 h 从尾端取血 20 μl ，测定放射性。在半对数纸上，以血中放射性(dpm/ml)对时间(h)作图，结果见图 2。

静注后血中放射性下降很快，5 min 时血中放射性为 92.32×10^5 dpm/ml，2 h 仅为 11.23×10^5 dpm/ml。

2. 口服 大鼠 5 只，口服给药后于 5, 10, 30 min 和 1, 1.5, 2, 4 及 8 h 自尾端取血

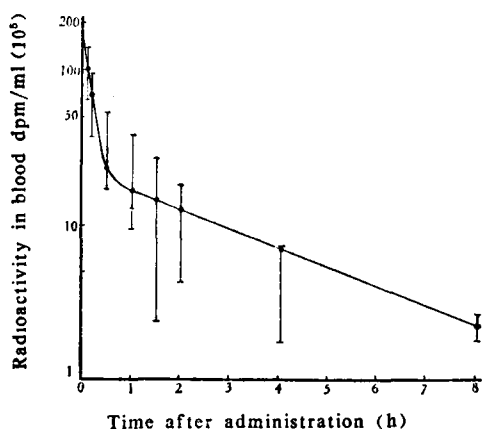


Fig 2. Variations of blood radioactivity of rats after intravenous injection of ^3H -gastrodin. Data are plotted as $\bar{X} \pm \text{SD}$ (n=5)

20 μ l, 测定放射性。结果见图 3。

口服后血中放射性上升快, 5 min 时血中放射性为 1.293×10^5 dpm/ml, 1 h 已达 5.370×10^5 dpm/ml。

(三) 组织分布

1. 静注 大鼠 6 只, 分 2 组。自尾静脉给药后 15 min 与 2 h 分别处死, 剖取内脏, 测定放射性。

静注 3 H-天麻素后, 肾中放射性远高于其他脏器。其次是肺、子宫、肝和血。脑中放射性较低, 但变化与其他脏器不同, 2 h 放射性比 15 min 时高。

2. 口服 大鼠 13 只, 分 5 组。口服给药后 10, 30 min 和 1, 2, 4 h 分别处死, 剖取内脏, 测放射性。结果见图 4。

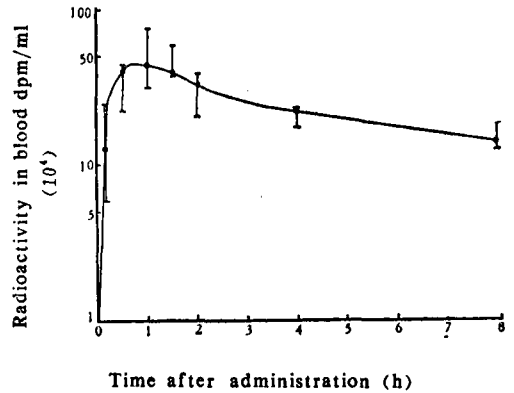


Fig 3. Variation of blood radioactivity of rats after oral administration of 3 H-gastrodin. Data are plotted as $\bar{X} \pm SD$ (n=5)

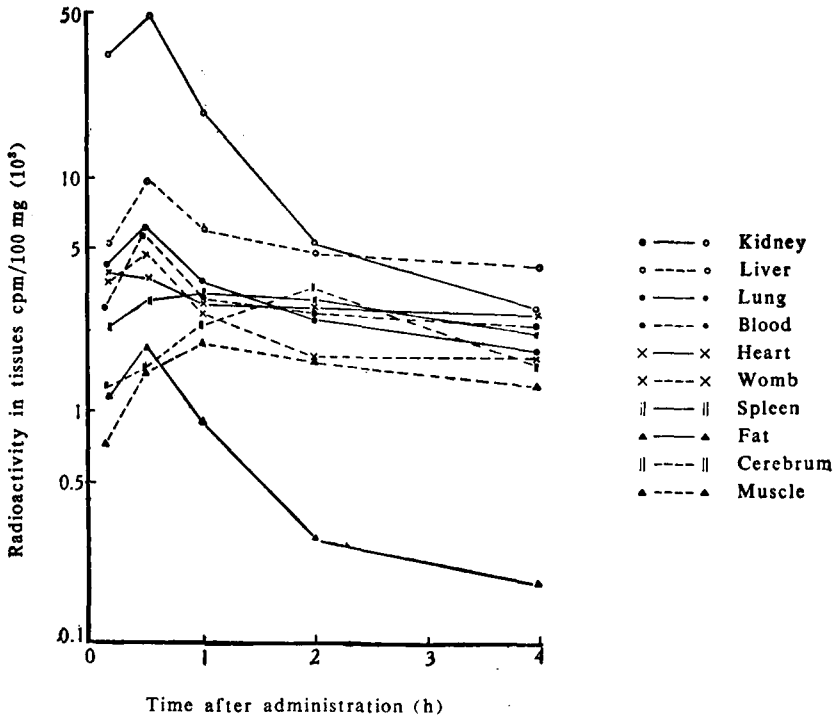


Fig 4. Variations of radioactivity in tissues of rats after oral administration of 3 H-gastrodin

放射性的组织分布与静注相似。心、脾放射性在 4 h 内变化不大; 肝、肺、子宫的放射性变化与全血一致。脑中放射性在 2 h 最高。脂肪中放射性很低。

3. 小鼠静注 3 H-天麻素后的整体放射自显影, 见图 5。

放射性在体内分布与大鼠相似。静注 15 min 时, 肾和膀胱放射性最强, 胃肠较弱。

(四) 排泄

1. 尿和粪 大鼠 5 只, 分置于代谢笼中。口服给药后于 1, 2, 4, 8, 12 及 24 h 分段收

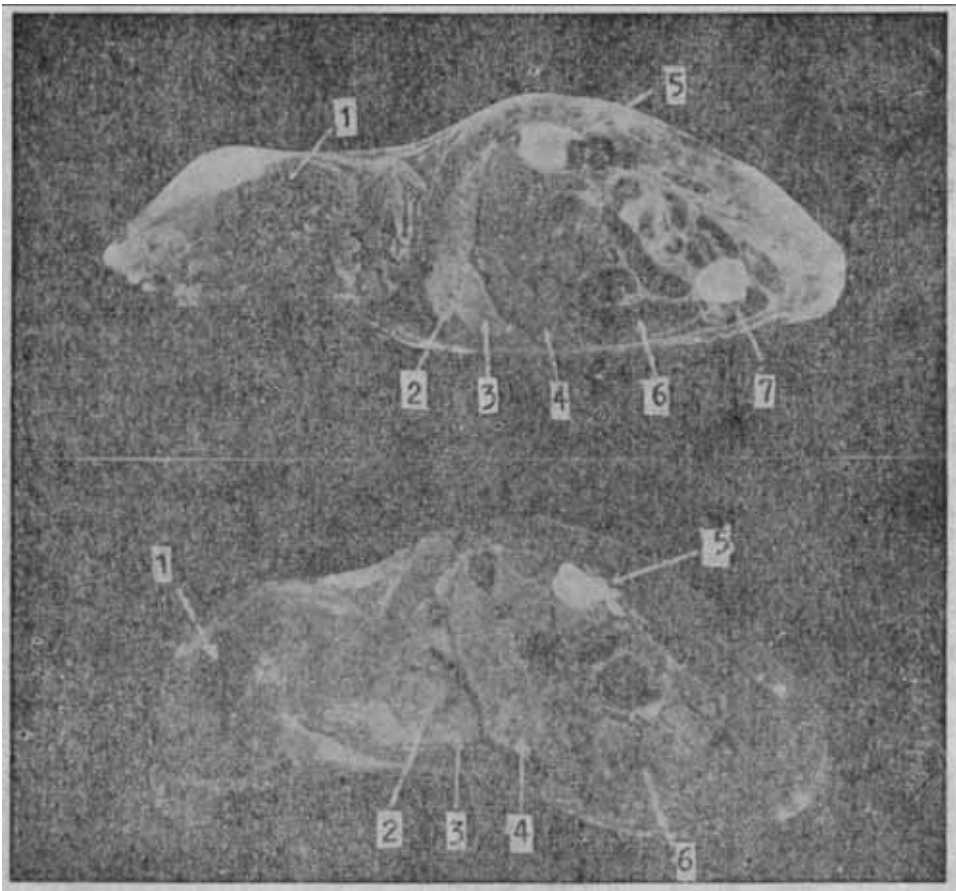


Fig 5. Whole body autoradiography of mouse after iv injection of ^3H -gastrodin 1. Brain; 2. Heart; 3. Lung; 4. Liver; 5. Kidney; 6. Intestine; 7. Bladder A 15 min after administration; B 2 h after administration

集尿和粪。测定尿、尿醚提液及粪的放射性。尿排泄结果表明：放射性主要从尿排出，且大部分在前 2 h 排泄。粪排泄很少，24 h 仅排出剂量的 0.63%。

2. 胆汁 大鼠 5 只，于乙醚麻醉下作胆道插管，待清醒后口服给药。给药后 1, 2, 4, 8, 12 和 24 h 分段收集胆汁，测定放射性。胆汁排出放射性也很少，给药后 24 h 仅排出剂量的 3.06%，排出速度近似一常数。

(五) 代谢物鉴定

取口服给药后 0.5, 2 和 4 h 的胃肠道及内容物提取液，4 和 8 h 的全血提取液，0.5 h 的脑匀浆提取液和尿，胆汁提取液，分别用硅胶板层析鉴定。结果发现胃肠道及内容物、血和胆汁中主要是天麻素及甙元，而脑和尿中主要是甙元。

(六) 血浆蛋白结合率

用平衡透析法测定天麻素及甙元血浆蛋白结合率。平衡时间 55-60 h，温度 4°C 。天麻素浓度为 0.01%。测得血浆蛋白结合率为 $4.3 \pm 0.36\%$ ($n=3$)。取平衡后透析液 1 ml 用乙醚 5 ml 提取，测定放射性。提取率仅 0.3%。本法证明在此实验条件下，无甙元生成。

天麻素溶液(含 ^3H -天麻素)在酸性条件下置 95°C 水浴回流 6 h。冷却后用乙醚提取，回收溶剂后配成甙元水溶液。(经板层析鉴定)。甙元血浆蛋白结合率为 $69.3 \pm 5.2\%$ ($n=4$)。

讨 论

大鼠口服 ^3H -天麻素后,放射性自胃肠道消失迅速,1 h 前放射性消失半衰期为 12.8 min,1 h 后为 4.08 h。口服后 8 h 胃肠道残存放射性仅为 1.1%。部分天麻素在胃肠道已水解成甙元。血中放射性上升很快,50 min 左右即达峰值。血中放射性在 1 h 后开始下降,至 8 h 已下降了 70% 左右。放射性主要经尿排泄,24 h 排出剂量的 66.12%,前 2 h 排出其中的 71.87%。排出的放射性物质中约 1/3 是甙元,原形药几乎检测不出。其余部分可能是水溶性的甙元结合物。胆汁与粪排泄的放射性都很少。据文献记载⁽⁹⁾,分子量 300 以下的药物不易从大鼠胆汁排泄,本实验结果与其相符。据此推断天麻素在大鼠体内不易形成肠肝循环。图 4 表明大鼠体内组织放射性的动态变化。肾为主要排泄器官,放射性最高。肝、肺、子宫其次,肌肉、脂肪较低,在体内不易蓄积。口服 ^3H -天麻素后 1h,血、肝、肾等放射性都已下降,但脑中放射性还在上升,至 2 h 后才下降。进入脑内的主要是甙元。天麻素的作用可能与甙元透过血脑屏障,并在脑内停留一定时间有关。从整体动物自显影来看,2 h 放射性在丘脑附近有一定蓄积,这是否与作用部位有关,还有待进一步研究。

大鼠静注 ^3H -天麻素后,血中放射性下降分快慢两相。0.5 h 前下降很快,1 h 逐渐变慢。8 h 血中放射性水平比 1 h 下降了 90% 左右。静注后的组织分布除肝、胃肠道外,与口服结果相似。

天麻素与血浆蛋白的结合率仅为 4%,而甙元高达 69.3%。可见天麻素在血中主要是游离态的,而甙元大多以结合形式存在。甙元的消除可能是体内总放射性消除速度的决定因素。

综上所述, ^3H -天麻素在大鼠体内具有吸收快、分布广、代谢旺盛和消除较快等特点。天麻素的中枢抑制作用可能通过其水解为甙元后进入脑组织所致。

致谢 昆明制药厂提供合成天麻素;本院叶德泳参加部分工作

参 考 文 献

1. 冯孝章等.天麻化学成分的研究.化学学报 1979; 37:175.
2. 周俊等.天麻的化学研究 I.化学学报 1979; 37:183.
3. 邓士贤等.天麻的药理研究(一).天麻素及天麻甙元的镇静及抗惊厥作用.云南植物研究 1979; 1:66.
4. 石毛等.天麻的药理学研究(第 1 报).国外医学中医中药分册 1981;3:53.
5. 莫云强等.天麻的药理研究(二).天麻素及天麻甙元对心脏及小肠的作用.云南植物研究 1980; 2:230.
6. 合成天麻素研究临床协作组.合成天麻素的临床应用.神经精神病杂志 1981; 7:74.
7. Brink M. Reduction of several hydroxybenzaldehydes with alkaline aqueous sodium borohydride. *Acta Univ Luad* 1965;sect II(16):1; *CA* 64:9620 d
8. 中国医学科学院第七研究室主编.同位素技术及其在生物医学中的应用.第 1 版,北京:科学出版社,1977:138.
9. 斯坦莱克 JB 著(沈文梅等译).药物作用的化学基础.第 1 版,北京:人民卫生出版社,1982:226.

KINETIC ASPECTS OF ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM AND EXCRETION OF ^3H -GASTRODIN IN RATS

LU Guang-Wei, ZOU Yuan-Jie and MO Qi-Zhong

(Shanghai College of Traditional Chinese Medicine, Shanghai)

ABSTRACT The physiological disposition of ^3H -gastrodin in female Sprague-Dawley rats was studied. The decline of radioactivity from gastrointestinal tract (GIT) was rapid following oral administration of ^3H -gastrodin, and only 1.1% of the dose was recovered from the GIT after 8 hours.

Rats were given intragastrically ^3H -gastrodin, the radioactivity in blood was on a moderate level at 5 min and reached its peak at 50 min.

Radioactivity was found to be highest in the kidney, moderate in liver, lung and womb, lower in the brain and reached maximum at 2 hours in the brain.

The radioactivity excreted in urine, feces and bile within 24 hours was 66.1%, 0.63% and 3.06% respectively of the dose per os.

The drug-plasma protein binding of ^3H -gastrodin was found to be 4.3%, and that of its genin was 69.3%.

The main metabolite detected by TLC was the genin (p-hydroxybenzyl alcohol).

Key words ^3H -gastrodin