

银莲花素 A 在大鼠肝匀浆中的代谢产物

曲方圆¹, 喻凯^{1*}, 李甫², 朱庆亚¹

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都 610031; 2. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 研究银莲花素 A 在大鼠肝脏的代谢产物。方法 采用薄层色谱和质谱鉴别银莲花素 A 在大鼠肝匀浆中的主要代谢产物。结果 银莲花素 A 在大鼠肝匀浆中主要得到水解产物 3-O-[β-D-吡喃葡萄糖-(1→2)-β-L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸、齐墩果酸; 经苯巴比妥诱导后的肝中水解产物量减少, 主要产物可能是水解产物经还原后与甘氨酸的结合产物。结论 银莲花素 A 在普通大鼠肝匀浆中主要发生水解反应, 在经苯巴比妥诱导的肝匀浆中主要发生还原反应。

关键词: 银莲花素 A; 肝匀浆; 薄层色谱; 体外代谢

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2009)03-0298-02

Analysis of metabolites of raddeanin A in homogenized liver of rats

QU Fang-yuan¹, YU Kai^{1*}, LI Fu², ZHU Qing-ya¹

(1. College of Life Sciences and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu, Sichuan, 610031 P. R. China; 2. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu, Sichuan, 610041 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To elucidate the metabolism of raddeanin A in liver of rats **METHODS** The main metabolites of raddeanin A in homogenized liver samples of rats were identified by TLC and MS **RESULTS** The main metabolites of raddeanin A were produced by hydrolysis in homogenized liver samples. The main metabolites might be produced by reduction and fixation reactions in homogenized liver induced by Phenobarbita **CONCLUSION** The main metabolites are of raddeanin A hydrolysates in normal homogenized liver while they are reductant products in homogenized liver induced by Phenobarbital

Key words: Raddeanin A; Homogenized liver; TLC; Metabolism *in vitro*

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2009)03-0298-02

银莲花素 A 即竹节香附素 A 是从中药竹节香附中分离出的三萜皂苷, 结构为 3-O-[β-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖-(1→2)-β-L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸^[1]。其体内代谢的研究尚未见报道, 因此, 特对其在大鼠肝匀浆中及在苯巴比妥诱导的肝中代谢情况进行了研究。

1 实验部分

1.1 试剂、仪器与动物

银莲花素 A、3-O-[β-D-吡喃葡萄糖-(1→2)-β-L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸、齐墩果酸对照品(分别为、, 中科院成都生物研究所)的结构见图 1。中型高速冷冻离心机(Beckman 公司); 高效硅胶 HF₂₅₄ 薄层板(青岛海洋化工厂)。

Wistar 大鼠(四川大学华西医学部实验动物中心), 200 ± 20 g

1.2 方法与结果

1.2.1 肝匀浆的制备 取 10 只 Wistar 大鼠, 随机分为 A、B 两组。将 A 组 5 只大鼠禁食 24 h 后处死取肝, 在冰浴中剪碎肝组织, 用 0.15 mol·L⁻¹ KCl

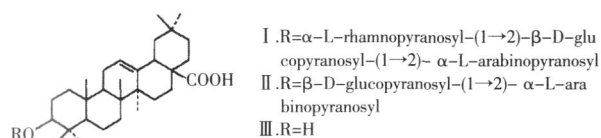


图 1 所用三萜化合物的结构式

Fig 1 Structure formulas of the triterpenoids

溶液冲洗至灰色, 称重后按 3 ml(缓冲液)·g⁻¹(肝组织)加预冷 TMS 缓冲液(pH 7.5, 0.05 mol·L⁻¹ Tris-HCl, 3 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.2 mol·L⁻¹ 蔗糖), 于冰浴中的匀浆机上匀浆后, 在 4℃ 下, 以 1.3 × 10⁴ r·min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液保存。取 B 组 5 只大鼠, 经苯巴比妥诱导(60 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 苯巴比妥, ig, 连续 5 d), 禁食 24 h 后处死, 取肝脏, 按前述方法制备肝匀浆。

1.2.2 体外孵育实验 将化合物先溶于少量 DMSO 中, 再分别溶于 A、B 两组肝匀浆中, 充分振荡, 37℃ 孵育。分别在 0、1、2、3、4 时取样, 高温灭活。

1.2.3 样品的检测与结果 取各样品用正丁醇萃

作者简介: 曲方圆(1985-), 女, 正攻读药理学专业的硕士学位。

*通讯作者 (Correspondent author), Email: yukai2037@sina.com

取,浓缩。分别取化合物、对照品,溶于正丁醇中,作为对照液。将对照液、各供试液分别点于高效硅胶 HF₂₅₄薄层板上,以甲醇-氯仿(1:5)(水饱和)为展开剂,展开,取出、晾干,喷以 5%硫酸乙醇显色剂溶液,再于 105 加热 3 min 后检视。除原药外,还有 3 个新的代谢产物,分别为 R_x 和 (图 2)。第 4、9 组孵育 0 h 时,即进行高温灭活,其产物只有 1 个,位置和化合物一致,说明在高温下未发生分解,具有高温稳定性。

化合物在未经苯巴比妥诱导的大鼠肝匀浆中的代谢以水解产物为主。孵育 1、2 h 的代谢产物主要为、,且以前者居多,对应斑点颜色较深。孵育 3、4 h 的水解产物均转化为。R_f值位于与之间的代谢物 R_x斑点颜色极浅。

在苯巴比妥诱导的大鼠肝匀浆中,代谢产物依然有和,但斑点颜色明显浅于 A 组,水解产物量减少,而 R_x产量增多,经质谱分析(图 3)。推测可能是经水解酶水解成双糖皂苷。双糖皂苷的苷元上的双键经还原酶还原加氢,苷元还原产物上的 28 位羧基再与甘氨酸发生结合反应所生成的产物(图 4),但其准确结构还有待进一步检测确认。

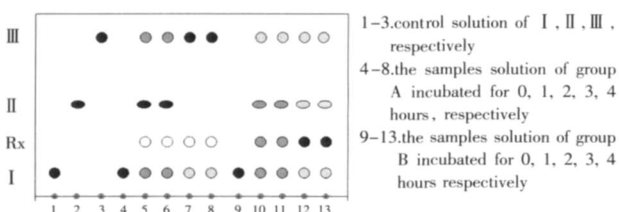


图 2 样品的薄层鉴别图
Fig 2 TLC of the samples

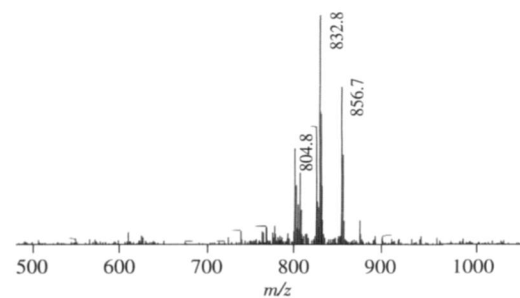


图 3 代谢物 R_x的质谱图
Fig 3 Mass spectrum of metabolite R_x

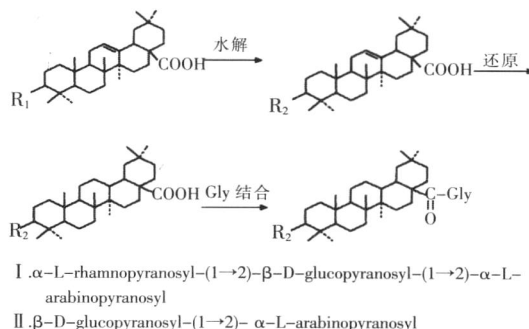


图 4 R_x可能的生成过程
Fig 4 Possible process prescription of R_x

2 讨论

肝脏是药物代谢的重要器官,肝酶可催化氧化、还原、水解、结合等生物转化,直接影响药物的生物利用度^[2]。苯巴比妥是肝脏药物代谢酶诱导剂,能增加肝脏微粒体的 P450 含量^[3],使氧化还原反应能力增强。因此,文中两组肝匀浆的代谢产物量明显不同,A 组以水解产物为主,而 B 组还原产物较多。银莲花素 A 在肝脏的代谢产物较复杂,已确定的有水解产物和,即 3-O-[D-吡喃葡萄糖-(1-2)-L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸和齐墩果酸,尚有一个产物经质谱鉴定,推测可能是水解后的双糖皂苷还原后与甘氨酸结合的产物,准确的结构还需进一步确认。竹节香附中三萜类成分的抗肿瘤活性研究表明,随着糖链的增长,活性降低,且可能因存在协同作用,使混合物的活性总是比单一化合物表现较强^[4]。鉴于此,银莲花素 A 的代谢混合物的抗肿瘤活性可能强于银莲花素 A 单体。

参考文献:

- [1] 吴凤镔,朱子清. 中药竹节香附 (Anemone raddeana Regel) 化学成分的研究 II[J]. 化学学报, 1984, 42(3): 253 - 258
- [2] 陈聪颖,周金娥. 槐苷在大鼠肝匀浆中的代谢[J]. 上海第二医科大学学报, 2005, 25(3): 232 - 234
- [3] 严敏芬,郝福荣,许立明,等. 大鼠肝微粒体 CYP2B1 的活性和 P450 含量的变化[J]. 复旦学报(医学版), 2006, 33(4): 513 - 516
- [4] 张嘉岷,曹莉,吴争鸣. 竹节香附中三萜类成分的抗肿瘤活性研究[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(3): 191 - 193

收稿日期: 2008 - 10