

^{14}C -棉酚在四种动物体内吸收、分布和排泄的比较研究

唐希灿 朱明康

(中国科学院上海药物研究所)

石其贤

(浙江人民卫生实验院药物研究所, 杭州)

提要 本文比较研究了 ^{14}C -棉酚在小鼠、大鼠、犬和猴体内的吸收、分布和排泄过程。小鼠和大鼠于单次口服 ^{14}C -棉酚后6~9小时, 血内放射性达高峰, 生物半衰期分别为31和16.5小时。口服 ^{14}C -棉酚48小时后, 以胃肠道内容物及肝、肾内放射性最高。睾丸内放射性大鼠比小鼠要高。进入体内 ^{14}C -棉酚, 放射性排出主要通过粪便, 少部分从尿排出。以犬和猴(各1只)进行比较研究, 也获得类似结果。它们睾丸内放射性均比大鼠低。与其它三种动物比较, 犬心脏内放射性最高, 猴体内放射性从粪便中排出最快。本文结果提示棉酚对不同动物的抗生育作用与毒性作用之间的差异, 可能与它在相应脏器内的分布、蓄积及排泄速度的不同有关。

有关棉酚的药理及毒理已有许多报道⁽¹⁾, 但均未注意到其抗生育作用。我国科技和临床工作者通过民间食生棉油出现不育症的启示, 发现棉酚对男子有抗生育作用^(2~4)。在开展此项研究时, 观察到棉酚对多种动物的毒性表现不尽相同, 如犬的突出反应是心脏毒性^(5~7), 而猴不太明显⁽⁶⁾。就抗生育作用而言, 以大鼠最明显, 而对小鼠与犬的作用不显著^(4,7)。这两方面的明显差别, 是否与棉酚在不同种属动物体内的吸收、分布和排泄不同有关, 值得进一步研究。为此, 我们用 ^{14}C -棉酚对小鼠、大鼠、犬和猴四种动物进行了比较研究。

材 料 与 方 法

^{14}C -棉酚系上海药物研究所合成室标记合成, ^{14}C 标记在醛基部位, 经纸上层析鉴定为放射纯棉酚, 其比放射性为 $0.3 \mu\text{c}/\text{mg}$ 。临用前以冷餐油溶解, 剂量为小鼠 $40 \text{ mg}/\text{kg}$, 大鼠 $15 \text{ mg}/\text{kg}$, 犬和猴均为 $2.0 \text{ mg}/\text{kg}$ 。口服给药时, 小鼠和大鼠分别以顶端圆钝的16号兽用针头直接灌胃。犬与猴以导尿管插入胃内, 通过此管将药物注入。本工作共用成年雄小鼠25只, 大鼠8只, 犬与猴各1只。给药后将动物置于代谢笼内分别收集尿及大便, 部分小鼠还收集呼出的 CO_2 ⁽⁸⁾。于给药后不同时间, 分别从眼眶静脉(小鼠、大鼠)或后肢小隐静脉(犬、猴)取血 $0.1\sim 0.2 \text{ ml}$, 测定血的放射性。处死动物时, 以乙醚或静脉注射戊巴比妥钠 $30 \text{ mg}/\text{kg}$ 麻醉, 分别从腹主动脉或颈动脉放血处死。记录全脏器重量, 称取 100 mg 左右(粪便仅取 20 mg 左右)的样品, 然后将血(0.1 ml)、脏器及粪便均置于样本袋内凉干。采

本文于1979年3月9日收到。

本工作于1975年在全国棉酚科研交流会上交流。1978年8月及10月分别在上海生理学会年会及全国生理学会年会上宣读交流。

用改进的氧瓶燃烧法, 先将样本完全氧化为 $^{14}\text{CO}_2$ 后, 再加入 8 ml 乙醇胺和乙二醇乙醚溶液 (1.2:4 V/V) 进行回收。从瓶内吸取 6 ml, 移入计数杯内, 并加入 5.5 ml 甲苯闪烁液 (480 ml 甲苯内含 PPO 6 g, POPOP 0.2 g⁽⁹⁾), 用 NE 5503 型液体闪烁探头测定样本中 ^{14}C 放射性强度, 每个样本均作内源标准进行淬灭校正。

结 果

(一) 血内 ^{14}C 放射性的测定

小鼠、大鼠、犬与猴于口服 ^{14}C -棉酚 3 小时后, 血内均可测到 ^{14}C 放射性。小鼠、大鼠和猴于给药后 6~9 小时, 血内放射性强度达到高峰, 犬则在 12~24 小时达到高峰。此后, 血内放射性强度逐渐下降。猴在服药 12 小时后血内放射性强度明显减弱, 24 小时后仅测及微量。而小鼠、大鼠及犬在 48 和 72 小时仍能测到 ^{14}C 放射性。将上述不同时间内测得的全血样本放射性强度在半对数纸上绘制成曲线, 由此计算出 ^{14}C -棉酚在小鼠、大鼠、犬和猴血内生物半衰期分别为 31、16.5、45 和 11 小时。大鼠连续 3 天口服 ^{14}C -棉酚后, 血内 ^{14}C 放射性有明显蓄积, 其生物半衰期延长至 31 小时。

(二) ^{14}C 放射性在胃肠道及胆汁内分布

^{14}C -棉酚分别以冷餐油溶解或以西黄蓍胶配制成混悬剂。小鼠于给药前先饥饿 14 小时。给混悬剂 ^{14}C -棉酚后 3~6 小时, 滞留在胃肠道各部分内容物中的放射性, 占总剂量的 53~56%, 油剂组仅占总剂量的 33~36%, 提示油剂的吸收较混悬剂剂型为快。但两者 24 小时后在胃肠道内仍有明显滞留 (图 1)。

小鼠口服上述两种剂型棉酚 3 小时后, 胆汁内均有很高的分布, 油剂比混悬剂约高 3 倍。6 小时后胆汁内放射性强度下降 (图 2)。

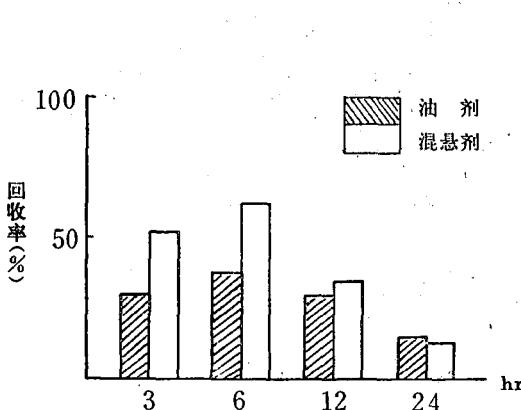


图 1 小鼠口服混悬剂和油剂 ^{14}C -棉酚 (1 mg, 0.3 μCi) 后, 放射性在胃肠道内消失的比较 (每组用体重 35~37 g 小鼠 2 只)

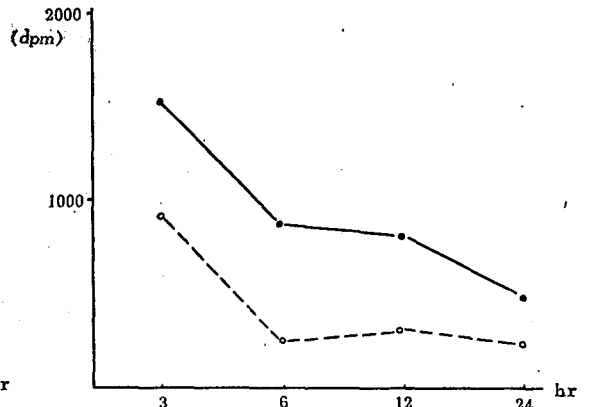


图 2 小鼠口服混悬剂和油剂 ^{14}C -棉酚 (1 mg, 0.3 μCi) 后, 放射性在胆汁内的浓度 (每点用体重 35~37 g 小鼠 2 只)
——油剂 ——混悬剂

(三) ^{14}C 放射性在组织内的分布

小鼠 9 只均分为 3 组。分别于口服 ^{14}C -棉酚后 24、48 和 72 小时处死。给药 24 小时后, 在脑、心、肝、肺、脾、肾、胃、肌肉、脂肪、睾丸、附睾及胃肠道内容物内, 均有 ^{14}C 分布。放射性以胃肠道内容物内最高, 其次为肝、肾、心等脏器。48 小时后除肝脏内 ^{14}C 放射性强度减低外, 其他各脏器内 ^{14}C 放射性强度均有不同程度的继续增高。72 小时后各脏器内 ^{14}C

放射性有不同程度的减弱,但在肝、肾及胃肠道内容物内仍有较多的 ^{14}C 分布。

大鼠单次口服 ^{14}C -棉酚后,各脏器及胃肠道各部分内容物内 ^{14}C 放射性强度的分布与小鼠相似。大鼠每天口服 ^{14}C -棉酚,连续3天,于停药48小时后处死测定结果表明,在肝、肾、脾以及胃肠道内容物内 ^{14}C 放射性强度均比单次给药的高,但在睾丸内蓄积不明显(表1)。

表 1 大鼠单次和连续三次口服 ^{14}C -棉酚48小时后,放射性在脏器、组织及胃肠道内容物中的分布比较

样 本	dpm/g 湿 重	
	单 次	三 次
心	4,047 ± 3,200	3,975 ± 982
肺	3,917 ± 715	3,769 ± 2,740
肝	6,162 ± 165	12,248 ± 1,743
脾	4,365 ± 273	6,806 ± 2,541
肾	4,082 ± 3,124	6,737 ± 1,795
辜 丸	2,291 ± 1,059	2,036 ± 912
附 辜	2,867 ± 2,312	2,107 ± 1,180
胃 内 容 物	14,883 ± 3,986	162,639 ± 28,370
小肠内容物	6,964 ± 560	8,725 ± 1,659
盲肠内容物	99,524 ± 21,660	782,227 ± 70,460
结肠内容物	11,954 ± 1,894	40,799 ± 1,962

大鼠2只1组(每鼠各脏器、内容物取2个样本)。表内数字为平均数±标准差

狗与猴子给药后48小时处死, ^{14}C 放射性强度均以肝脏最高,肾次之。胃肠道内容物内 ^{14}C 分布也很高。在狗的肝脏和胆汁内也有较多的 ^{14}C 分布,但在睾丸及附睾内分布很低。

表2结果表明,狗肝脏内 ^{14}C 放射性强度占总剂量5.5%,心脏占0.29%,肾脏占0.35%,均远比小鼠、大鼠和猴为高。睾丸内 ^{14}C 放射性分布在四种动物中均较低,仅占总剂量的0.21~0.01%,以大鼠最高,狗最低。四种动物的胃肠道各部分内容物内 ^{14}C 分布也

表 2 四种动物各单次口服 ^{14}C -棉酚48小时后,放射性在脏器、组织及胃肠道内容物中的分布比较

样 本	占 总 剂 量 (%)			
	小 鼠	大 鼠	狗	猴
脑	0.03	0.08	0.03	0.1
心	0.05	0.11	0.29	0.05
肺	0.03	0.16	0.06	0.05
肝	2.1	2.28	5.5	1.2
脾	0.01	0.08	0.13	0.02
肾	0.26	0.3	0.35	0.31
辜 丸	0.04	0.21	0.01	0.07
附 辜	—	9.05	0.01	0.09
胆 汁	0.01	—	0.15	0.01
胃 内 容 物	4.2	0.4	0.65	0.37
小肠内容物	0.9	0.41	0.42	0.17
盲肠内容物	10.3	5.87	0.27	—
结肠内容物			0.24	0.21

表内数字为小鼠3只,大鼠2只,狗与猴各1只(2个样本)测定的平均数

很高, 分别占总剂量的 0.75~15.4%。

(四) ^{14}C 放射性从体内排出

口服 ^{14}C -棉酚后从排出的粪便和尿内 ^{14}C 放射性测定结果表明, 进入体内的 ^{14}C -棉酚, 其放射性绝大部分从粪便排出, 少量从尿及 CO_2 内 (小鼠) 排出 (表 3)。 ^{14}C 从猴体内排出最快, 24 小时内从大便排出 ^{14}C 放射性占总剂量的 30.4%, 48 小时后排出 72.9%, 远比小鼠、大鼠和狗快。后三种动物给药后 48 小时, 分别从粪便排出 49、43.4 和 48.3%。

表 3 四种动物各单次口服 ^{14}C -棉酚后, 放射性从尿、粪便及二氧化碳中的排出率比较

项 目	给 药 后 (hr)	占 总 剂 量 (%)			
		小 鼠	大 鼠	狗	猴
尿	24	0.93	2.6	1.3	0.34
	48	0.81	1.02	1.2	1.09
	72	0.17	0.78	—	—
		1.91	4.1	2.5	1.43
粪 便	24	19.3	21.0	2.4	30.4
	48	29.7	22.4	45.9	42.5
	72	9.3	26.4	—	—
		58.7	69.2	48.3	72.9
二氧化碳	24	2.1			
	48	0.32			
		2.42			

讨 论

棉酚的毒性因动物种属不同而异。虽有报道应用同位素标记追踪, 或化学测定方法研究棉酚在生蛋母鸡、大鼠或猪体内的吸收、分布和排泄⁽¹⁾。但未见多种动物的作用差异比较。有关在小鼠、狗和猴体内的吸收、分布和排泄, 则至今未见报道。国内一些单位的研究指出, 给狗较长期喂棉酚后, 抗生育作用不明显, 但对心脏的毒性很大^(6,7)。对猴的毒性明显地低于狗⁽⁶⁾。对多种动物的抗生育作用研究结果表明, 以大鼠的作用最明显。本文结果表明, 给 ^{14}C 棉酚后放射性在四种动物的睾丸内的分布, 以大鼠最高, 狗心脏内放射性分布比小鼠、大鼠和猴为高。而 ^{14}C 从体内排出以猴最快。提示棉酚对不同动物的抗生育作用和毒性差异, 可能与其在体内有关脏器内的分布、蓄积以及排泄速度有关。大鼠较长期喂抗生育剂量的棉酚后, 出现摄食减少, 生长停滞⁽⁴⁾, 棉酚可使多种动物出现肝功能异常^(1,4)。临床报道服棉酚的部分对象, 主诉不同程度的胃肠道不适、乏力⁽¹⁰⁾及谷丙转氨酶一过性升高等副反应⁽¹⁾。上述副反应的出现, 推测与棉酚进入体内后, 较多地在胃肠道内及肝脏的蓄积储留可能有关。据报道棉酚中毒病人均出现低血钾⁽¹¹⁾, 为节育而服用棉酚的男子偶见有低血钾软瘫。服棉酚后出现乏力的 45 例服药者, 有 22 例血清钾低于正常值, 经补钾治疗后症状缓解好转⁽¹⁰⁾。在 ^{42}KCl 追踪试验中, 我们曾观察到服棉酚组大鼠的尿内 ^{42}K 排出比对照组大鼠为高 (未发表资料)。有报道在 28 例服棉酚出现低血钾症患者中, 有 27 例 24 小时尿钾排出增高, 表明棉酚引起低血钾症的主要原因可能为肾性失钾⁽¹⁰⁾。由于在四种动物的肾脏内均有较多的 ^{14}C

放射性分布蓄积,提示进入体内的棉酚或其代谢产物在该脏器内的蓄积,有可能影响肾脏的调钾功能,在探讨棉酚与低血钾症的关系时,肾脏这一环节是应给予注意并进行研究。)

Abou-Donia 等报道大鼠单次口服 ^{14}C -棉酚后,放射性从体内排尽约需 13 天⁽¹²⁾。而猪在 20 天后体内仍有较多滞留⁽¹³⁾。作者之一曾观察到猴和狗长期服用棉酚,于停药后一个月,在肝、心、肾等脏器内仍测到一定量的结合棉酚,表明以结合型式存在的棉酚在体内有明显的滞留⁽⁶⁾。本工作表明,大鼠连续 3 次给药后均比单次给药者明显增高。因此,长期服用棉酚后,对体内主要脏器有否蓄积损害作用,仍应予以重视。

参 考 文 献

1. Abou-Donia, M B: Physiological effects and metabolism of gossypol. *Residue Rev* 61: 125~60, 1976
2. 刘宝善: 将食用棉油来节制生育的刍议. 上海中医药杂志 6:43, 1957
3. 男用节育药全国协作组: 一种新的男用节育药——棉酚. 中华医学杂志 58:455, 1978
4. 王月娥等: 棉籽粉及棉酚的抗生育作用研究. 药学报 14:663, 1979
5. Eagle, E: A review of some physiological effects of gossypol and cottonseed pigment gland. *J Amer Oil Chem Soc* 37:40, 1960
6. 桑国卫等: 棉酚对犬和猴的慢性毒性及其吸收、分布、排泄的研究待发表
7. 中国医学科学院药物研究所: 棉籽抗生育实验小结. 内部资料 1973
8. 梁尤毅等: 南瓜子氨酸- ^{14}C 的代谢. 原子能科学技术 11:1257, 1964
9. 唐希灿等: 生物样本中 ^{14}C 的氧瓶燃烧测定法. 生物化学及生物物理进展 5:69, 1979
10. 钱绍楨等: 棉酚有关低血钾症的临床药理研究. 江苏医药 4:24, 1978
11. 邢 非: 棉酚中毒 92 例报告. 陕西新医药 2:42, 1975
12. Abou-Donia M B, et al: Metabolic fate of gossypol: the metabolism of ^{14}C -gossypol in rats. *Lipids* 5: 938, 1970
13. Abou-Donia M B, et al: Metabolic fate of gossypol: The metabolism of ^{14}C gossypol in swine. *Toxicol Appl Pharmacol* 31:32, 1975

COMPARATIVE STUDIES ON THE ABSORPTION, DISTRIBUTION AND EXCRETION OF ^{14}C -GOSSYPOL IN FOUR SPECIES OF ANIMALS

Tang Xican and Zhu Mingkang

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica)

Shi Qixian

*(Institute of Material Medica, Zhejiang People's
Academy of Experimental, Hangzhou)*

ABSTRACT

This study is devoted to investigate the pattern of absorption, distribution and elimination of ^{14}C -labeled gossypol (Spec. act. $0.3 \mu\text{ci}/\text{mg}$). Single oral doses of 40, 15, 2 and 2 mg/kg were administered to mice, rats, dog and monkey, respectively. The results indicate that in the blood of mice and rats the peak of radioactivity appeared 6~9 hr after the administration; the biological half-lives of gossypol in each of these were 31 and 16.5 hr. Forty eight hours after ^{14}C -gossypol administration radioactivity was found in all tissues determined, concentration of ^{14}C in the contents of gastrointestinal tract was the highest, while that in the liver and kidneys were next to it. Radioactivity was higher in the testes of rats than in those of mice. The main route for ^{14}C -gossypol elimination was in the feces, only a very small portion of the ingested ^{14}C was eliminated via the urine. In similar experiments on one dog and one monkey, radioactivity in testes was found to be lower than in rats. The radioactivity of the dog heart was the highest while the rate of excretion of ^{14}C via the gastrointestinal tract of the monkey was highest among all these 4 species. The biological half-life of gossypol in blood were 11 and 45 hr in monkey and dog, respectively.

The experimental data thus obtained suggest that the difference in antifertility activity and toxicity of gossypol among different animals might be attributed to the difference of distribution, rate of absorption and elimination among these animals.