

## Dicentrine 在蘭嶼迷你豬之代謝研究

賴怡君

藥物動力學 (Pharmacokinetics) 為研究藥物在人體之吸收 (absorption)、分佈 (distribution)、代謝 (metabolism) 及排除 (elimination)，即 ADME，其中，代謝之研究非常重要，藥物之代謝方式及途徑對其藥效有很大的影響。在藥物的代謝物及代謝途徑的研究文獻中，HPLC-MS (高效液相層析 - 質譜) 一直佔有重要地位。但是，近幾年來隨著儀器技術性的開發，HPLC-NMR (高效液相層析 - 核磁共振) 在藥物代謝的應用上愈來愈多。本研究利用最新之 HPLC-SPE-NMR 連結技術，將固相萃取 (Solid Phase Extraction) 搭配高磁場核磁共振儀 (600 MHz NMR)，可快速有效地達到鑑定代謝物結構之目的。

(+)-Dicentrine 為一具有許多生物活性之阿朴芬生物鹼 (aporphine alkaloid)，分離自樟科、罌粟科、防己科及紫堇科等植物，其藥理活性包含抗心律不整、抗血小板凝集、血管舒張、 $\alpha$ 1-adrenoceptor 拮抗劑、抗高血脂作用，且已在動物實驗中得到證實。研究指出，dicentrine 分佈及排出之半衰期很短 ( $T_{1/2\alpha}$  4.32 min;  $T_{1/2\beta}$  45.20 min; Clearance 0.51 L/Kg/min)，推測其代謝甚快。為釐清其在動物體內代謝的情形並探究其代謝途徑，本研究以較大型動物 (蘭嶼迷你豬) 進行試驗，此動物可生長到 100 Kg，可投予更大量之藥物，以得到更多的代謝物含量而利於分析。

Dicentrine mesylate 溶於水後經由口服灌入蘭嶼迷你豬後 (40 mg dicentrine/Kg)，收集 4.8、7.0、9.4、11.3、14.0、26.0 及 48.0 小時之尿液，經過冷凍乾燥及 90% 甲醇 - 水溶液萃取後，利用凝膠管柱層析 (Sephadex LH-20) 集中含有 aporphine 類之化合物，再經電灑式質譜儀、HPLC-SPE-NMR 連結技術分析以及半製備 semi-preparative HPLC 分離，共可鑑定出 15

個 phase II 的代謝物，其皆為 glucuronides；此外，將 24 小時內收集的尿液，改以吸附性管柱 (Amberlite XAD-II) 做前處理，再利用上述分析及分離方式，共可鑑定出 9 個 phase I 的代謝物及 dicentrine。然而，我們亦收集給藥後 48 小時內之糞便，經 90% 甲醇 - 水溶液萃取後以 HPLC 分析，並沒有發現主要的代謝物產物。

實驗結果發現 dicentrine 在蘭嶼迷你豬代謝後經由尿液排除，且由尿液中總共分析並鑑定出 24 個代謝物，其中 phase II 代謝物含量較多，經由文獻可知 aporphine 之酚基易與 glucuronic acid 共軛結合增加其水溶性，以利於尿液排出。本研究發現 Phase I 代謝途徑包含 *N*-demethylation、*N*-oxidation、*O*-demethylation (9,10-OMe)、*O,O*-demethylation (1-OCH<sub>2</sub>O-2)、C-4 benzylic 及 C-3 (aromatic) hydroxylation，推測這些反應是經由肝臟之 Cytochrome P450 酵素產生之代謝物；Phase II 代謝途徑則包括在 C-1、-2、-3、-9 及 -10 之酚基上進行 glucuronidation，推測由 UGT (UDT-glucuronosyl transferase) 催化產生，本實驗除了發現 monoglucuronide，也發現 diglucuronide (9,10-di-*O*-glucuronide) 及 9-*O*-glucuronosyl-10-*O*-glucoside，由此可知，酚基化合物除了進行常見之 glucuronidation，也會進行 glucosylation。此外，本研究也發現 actinodaphnine 9-*O*- $\beta$ -D-glucuronide 為 dicentrine 在蘭嶼迷你豬中之主要代謝物。上述代謝物之藥理活性則需進一步之研究。

註：本篇報導之相關著作發表於 *Drug Metabolism and Disposition* 38: 1714-1722, 2010，作者為本系今年博士班畢業生。本篇獲臺大醫學院 99 學年度研究生優秀論文著作獎佳作

# 一個新的化合物在前列腺癌細胞的作用機轉研究

張瑋凌

c-Jun N-terminal kinase (JNK) 及 tubulin 經常被做為抗癌藥物開發的作用標的，然而，想要成功開發這類藥物，常遇到的一個難題是抗藥性的問題，如：P-glycoprotein (P-gp)- 相關的抗藥性，本研究所要探討的化合物，便是要針對這些問題加以解決。本研究使用了一些藥理及生化的方法，來探討化合物 PPTMB [2-phenyl-5-(pyrrolidin-1-yl)-1-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-1H-benzimidazole] 在人類前列腺癌的抗癌作用，以及設計一些實驗來研究其作用機轉。我們的結果發現 PPTMB 可以有效的抑制數株人類前列腺癌細胞，此外，PPTMB 也能有效的抑制 NCI/ADR-RES 細胞 (高度表達 P-gp)，顯示 PPTMB 並不是 P-gp 的受質。相較之下，P-gp 的受質，如：taxol 及 vincristine，則在 NCI/ADR-RES 細胞的抗癌作用，會降低數百到千倍。PPTMB 作用於人類前列腺癌細胞，會顯著的引起細胞週期 G2/M 期的停止，以及後續的凋亡作用。以 tubulin 聚合法及西方墨點法的實驗發現，PPTMB 會直接作用於 tubulin，破壞 tubulin 的聚合作用，引起細胞停止於有絲分裂期，此外，也可以觀察到 cyclin B1 的蛋白表現持續性的增加，以及 Cdk1 的活化，接著會發現粒線體相關的 Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1 等的降解作用、truncated Bad 的產生，以及 caspase-9 與 -3 的活化。PPTMB 也活化了 JNK (Thr183/Tyr185 位置的磷酸化)，JNK 選擇性抑制劑 SP600125 也能顯著的抑制 PPTMB 的作用。此外，PPTMB 對於正常的前列腺細胞的抑制作用，則較癌細胞弱十倍以上。綜合以上

結果，我們認為 PPTMB 是一個有潛力的對抗前列腺癌細胞的化合物，它可直接作用於 tubulin，破壞 tubulin 的聚合作用，引起細胞停止於有絲分裂期，並活化 JNK，並使粒線體抗凋亡蛋白降解，而活化 caspase- 相關的凋亡作用。重要的是，PPTMB 不是 P-gp 的受質，且對於腫瘤細胞及正常細胞有很不錯的選擇性，是一個有潛力的化合物 (.)。

註：本論文發表於 *British Journal of Pharmacology* 2010;160:1677-89，作者畢業於本系碩士班 - 顧記華老師實驗室，目前在俄亥俄州州立大學攻讀博士，本篇獲臺大醫學院 99 學年度研究生優秀論文著作獎佳作獎。