

异生物素及其代谢物在反刍动物体组织的吸收、运转与分布

龙瑞军^{1,2}, 王元素², 董世魁³, 白琰², J Pagella⁴

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008; 2. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070;
3. 北京师范大学资源科学研究所, 北京 100875; 4. Universidad Nacional de Le Pampa, Argentina)

摘要: 消化道中的芳香族和脂环族异生物素通过被动扩散穿过细胞内通道胞膜而被上皮层吸收, 吸收后一进入血液立即与血液成分如蛋白质(主要为白蛋白)和红细胞结合; 其结合限制了异生物素在血液与细胞内环境之间的分布, 有利于异生物素达到代谢场所(主要是肝脏), 通过一个双阶段的反应过程, 异生物素失活; 芳香族和脂环族化合物在体组织中的氧化反应主要有、氧化反应和芳构化反应, 通过共轭反应, 异生物素降低了脂溶性而能够通过尿液排泄; 异生物素的共轭反应主要有与葡萄糖苷酸共轭、与硫酸共轭、与氨基酸共轭 3 种途径, 而这 3 种途径之间对底物存在竞争机制。

关键词: 反刍动物; 异生物素; 体组织; 吸收; 分布; 运转

中图分类号: S823 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5759(2006)01-0001-08

植物体内广泛存在的芳香族和脂环族化合物等异生物素被认为是植物为防止反刍家畜等草食动物采食而进化的一种保护策略, 而反刍动物在长期接触异生物素的条件下具备了对其解毒和排毒的应对机制。这些异生物素在反刍动物体内的消化代谢途径主要取决于瘤胃微生物的代谢能力和化合物本身的结构特点。在瘤胃厌氧微生物的作用下, 或通过水解、还原, 或经取代、脱羧等反应, 进行生物转化或矿化, 其还原代谢产物的毒性远低于其前体物^[1-3]。异生物素及其代谢产物进入血液循环后, 经过一系列的运转与转化过程, 经胆汁分泌和肾脏过滤排泄, 最终被排出家畜有机体外, 达到解毒或排毒的目的。

反刍家畜采食行为是由生物和非生物因素相互作用和共同影响的复杂动态过程。放牧条件下难于准确地测定和预测家畜的采食量。通过测定与饲草水平密切相关的家畜尿液、血液或粪便中的代谢物水平, 将成为预测放牧家畜采食量的准确方法^[4]。尿液中的异生物素及其代谢物的含量水平对预测反刍家畜的采食量最具有潜力, 有必要进一步对其在有机体内的吸收、运转、循环与排泄机理与机制进行探讨与总结, 才能为反刍动物采食量与芳香族化合物排泄水平的关系机理模型的建立提供理论依据。

1 消化道上皮组织对芳香族和脂环族化合物的吸收

Jackson^[5]认为, 消化道上皮组织对溶质的吸收涉及到代谢物经细胞内、外通道的运输过程。至于异生物素(xenobiotics)如芳香族和脂环族化合物, 通过消化道上皮层吸收时, 主要通过被动扩散穿过细胞内通道的胞膜^[6,7], 而这种扩散的动力主要来自于透膜浓度梯度(transmural gradients of concentration)、pH 值和电势^[5]。糖、氨基酸、嘌呤(purine)和嘧啶(pyrimidine)基(团)等亲水代谢物以及无机离子的吸收, 主要通过主动运输穿过胞膜, 而异生物素则一般不通过主动运输被上皮组织吸收^[6]。消化道上皮组织的细胞外通道在渗透压和静水压的透膜梯度作用下, 让分子量低于 200 的溶质总体流动(bulk flow)穿过细胞间隙^[8]。当瘤胃液与血浆形成等渗环境而大量代谢物需要运输时, 溶质的总体流动具有重要作用^[9]。除透膜浓度梯度、pH 值、电势、渗透压和静水压外, 其他影响溶质吸收的因子有消化道壁附着的鲁米那液(luminal fluid)未激活层的扩散阻抗性、消化道上皮细胞膜的可渗透性、消化道吸收面积的大小、消化道蠕动力和消化道粘膜的血流量等^[5]。有人认为短链脂肪酸(short-chain fatty acids)的存在对瘤胃上皮组织的血液循环具有积极的促进作用^[10]。

收稿日期: 2004-07-25

基金项目: 中国科学院“百人计划”; 高等学校优秀青年教师教学科研奖励计划(TRAPOYT)资助。

作者简介: 龙瑞军(1964-), 男, 吉林农安人, 教授, 博导, 博士。E-mail: longrj@gsau.edu.cn

芳香族代谢物能直接在瘤胃中大量吸收可能是通过被动扩散穿过网胃上皮组织^[11],由于芳香族和脂环族酸属于弱电解质,所以在消化道上皮组织的细胞通道内主要以未离子化形式扩散^[12],消化道上皮组织吸收层的pH值、弱电解质的解离常数和脂溶性是决定溶质吸收极为重要的因素^[13]。因此,电解质在肠道的鲁米那环境中的离子化程度、未解离电解质的脂溶性是影响溶质吸收率的相关因素^[12]。消化道吸收异生物素的主要途径是门静脉^[6],考虑到血液流量是淋巴液流量的500~700倍,淋巴系统对异生物素吸收的贡献率可以忽略不计^[8]。

2 芳香族和脂环族化合物与血液成分的结合

一旦芳香族和脂环族异生物素进入血液循环,几乎立即与血液成分相互作用,最先观察到的相互反应是异生物素与血液成分的结合。其结合遵循质量(浓度)作用定律(mass action law),这一原理包含受饱和和动力学(saturation kinetics)支配的自由可逆过程^[7,14]。异生物素与血液成分如蛋白质和红细胞结合,包含不同性质的非共价结合力^[15],疏水基、诱导偶极、离子、静电及范德华力等参与了血浆与异生物素的结合^[16]。大多数血浆蛋白质由肝脏产生^[17],白蛋白(albumin)是与异生物素结合的最主要蛋白质^[16]。据报道,狗的血浆中马尿酸(hippuric acid)的总结合率为21%~34%^[18],而山羊血浆中水杨酸(salicylic acid,游离态+共轭结合态)的总结合率为58%~64%^[19]。

血浆结合可能会限制异生物素在血液与细胞内环境之间的分布^[16],异生物素新陈代谢率不会被其与血浆结合形式的离解程度所限制,在某种程度上,可以认为这种结合是维持浓度梯度使异生物素穿过细胞膜到达代谢场所的一种代谢机理^[20]。异生物素与血浆蛋白质结合降低了化合物通过肾小球过滤的排出率^[16,20],但一般不是肾小管分泌或新陈代谢的限制因素^[14],因为这些过程能够降低能迅速诱发异生物素-蛋白质配位化合物离解的非结合态化合物的浓度。至于非结合态形式,如果异生物素的清除速度比器官中血浆的流动速度快,与血浆蛋白质结合可以被认为是促进体内化合物清除的一种运输机制^[14,20]。与血浆蛋白质结合的一个重要结果是异生物素的主要生物作用可能被大幅减轻^[12,13],动物的营养水平会影响血浆与异生物素的结合率^[15],例如,蛋白质损耗或来自脂肪代谢的非酯化脂肪酸的高循环水平,将会减少异生物素与血浆蛋白质的结合率^[15]。

3 芳香族和脂环族化合物在动物体内的分布与循环

当芳香族和脂环族异生物素以游离态和结合态形式进入门静脉血液(portal blood),在经动脉血运输到身体其他部位之前必须依次通过肝-心-肺-心器官^[16]。当某种正在循环的异生物素与某个组织细胞相遇,该物质便按照其亲脂特性与血浆和细胞膜分开^[21]。异生物素主要以非结合态形式进入细胞^[16],而且有多种可选择去向^[21],可袭击细胞核改变基因组,袭击线粒体改变呼吸作用;可经过酶的生物转化,被细胞膜类脂环境所保留,使细胞不发生变化或生物转化。如果代谢率或排泄率较低,异生物素化合物一旦被有机体吸收就会在脂肪组织中积累^[22]。

在进化过程中,动物获得了代谢失活机制(mechanisms of metabolic deactivation),即一旦完成某一激素的生理“任务”就终止该激素的活动,从而消除所采食的植物饲料中异生物素化合物的毒性^[7]。Sherwin^[23]第一次提出解毒的化学防御机制这一动物异生物素代谢假说。在进化过程中,动物对生境中自然分布的异生物素产生了较强的分解能力^[21],异生物素的分解和清除主要通过生物转化和排泄机制来完成^[7,16]。Wilkinson^[27]认为,与促使体组织对该化学物质的排出作用相比,解毒功能本身是次要的,因为动物体无法预先判断某一异生物素的毒性。如果动物体对异生物素排出率高,即便是毒性最强的异生物素也只会产生较小的生物作用^[17]。肉食动物异生物素代谢能力明显低于杂食动物和草食动物,因为它们日粮中采食外来化合物的范围相对窄小^[24]。

哺乳动物对异生物素的多种生物转化过程是一个热门话题^[20,24~32],通过生物转化,增强了异生物素的亲水性^[33]。Williams^[24]认为动物的异生物素代谢存在一个双阶段过程。阶段I包括氧化、还原反应和水解反应过程,反应后异生物素获得了新的化学基^[26],通过阶段I的化学反应,一个官能团通常被添加到异生物素中^[34],因此也叫作官能化反应(functionalisation reactions)^[35,36];阶段II包括异生物素与共轭剂(conjugating agents)的结合过程^[26],通过阶段II的化学反应(主要是共轭反应),异生物素转化为低毒性、高水溶性的代谢产物^[25,29]。某些异生物素如水杨酸^[19],在不经阶段II的前提下,也可以直接进行阶段II的化学反应^[37]。

肝脏通常是异生物素代谢的主要场所^[7,13,16,26,33,37],除肝脏外,其他组织如肾、消化道粘膜、肺及肾上腺皮质

(adrenal cortex) 也可以在某种程度上进行阶段 的化学反应^[25,37]。在肾、肠粘膜、肺和皮肤等组织中,也已经观察到阶段 的化学反应^[38]。在绵羊和牛的肾、瘤胃壁及回肠壁上,与阶段 、 异生物素生物转化对应的酶活动有重要的作用^[39]。尽管一些反应明显集中在某一种细胞里(subcellular)的细胞器中,异生物素的生物转化发生在细胞的各个部位^[33],但异生物素阶段 的反应仅限于内质网中(endoplasmic reticulum)^[20,29]。细胞线粒体是阶段 反应中酶与氨基酸共轭结合的场所^[35];内质网是酶与葡萄糖苷酸共轭的场所^[34,35];胞液是酶与硫酸盐共轭的场所^[40]。

4 体组织中已知的芳香族和脂环族化合物氧化反应

发生在内质网的大多数异生物素氧化反应通过 NADPH - 细胞色素还原酶 C 和血红蛋白(haemoprotein,一种对一氧化碳敏感的被称为 P-450 的细胞色素)的联合作用来调节^[20],有一些异生物素氧化反应也可通过胞质酶(cytosolic enzymes)来调节^[41]。脂肪酸通过 或 氧化进行脱羧作用,氧化是这些化合物中间代谢的主要途径^[42],但不是细胞色素 P-450 调节的氧化过程中发生的反应^[43]。事实上,氧化是阶段 中具有 3 个或 3 个以上碳原子链状侧链的异生物素苯基脂肪酸的代谢反应。通过 氧化,具有奇数碳原子侧链的苯基脂肪酸转化为苯甲酸,而具有偶数碳原子侧链的苯基脂肪酸转化为苯乙酸(phenylacetic acid)^[24,44]。氧化的脱羧反应只发生在肝脏和肾脏,而在细胞内主要发生于线粒体,也有报道认为过氧化物酶体(Peroxisomes)和乙醛酸循环体(gloxy-somes)也是 氧化反应的场所^[42]。过氧化物酶体在异生物素苯基脂肪酸 氧化反应中起着重要作用^[45]。在 Leloir 和 Munoz^[46]从肝脏自由细胞制剂中测定到 氧化反应以来,这个代谢途径的许多生化特征逐渐被揭示出来^[42]。一旦通过饱和与不饱和 2 种机制扩散到组织细胞内,脂肪酸可能就与一个分子量较低的蛋白质载体结合穿过细胞液直到线粒体膜外^[47]。在线粒体水平上进一步通过硫脂辅酶 A(coenzyme A thioester)的形成、酰基辅酶 A(acyl-coenzyme A)的 和 氢化作用、双键水合、-羟酰辅酶 A(-hydroxyacyl-coenzyme)氧化及硫脂 酮酯酰辅酶 A(thioester -ketoacyl-coenzyme A)断离等形成的脂肪酸活化是整个代谢过程的关键步骤^[48]。上世纪初 Knoop 开创性地揭示了体组织中苯甲酸和苯乙酸对氧化的抗性,这是进一步开展动物研究以证实苯基脂肪酸 氧化发生于 3 个或多个碳原子侧链上的基础^[44]。同时,在老鼠肝匀浆的体外实验中观察到对香豆酸(p-coumaric acid)的 氧化反应以及对羟基苯丙酸(p-hydroxyphenylpropionic acid)向对羟基苯酸(p-hydroxybenzoic acid)的转化过程^[49]。

异生物素环己基脂肪酸的芳构化是另一种代谢转化形式,它不涉及细胞色素 P-450 调节氧化的参与。具有奇数碳侧链的异生物素环己基脂肪酸可以通过 氧化转化为环己烷羧酸(cyclohexanecarboxylic acid),环己烷羧酸通过芳构化可以得到苯甲酸;具有偶数碳侧链的环己基脂肪酸通过 氧化可以转化为环己基乙酸(cyclohexylacetic acid),不经过芳构化但经历环裂变^[24,30]。从环己烷羧酸到马尿酸的转化发生在线粒体中^[50,51],更具体地说是发生在线粒体基质(mitochondrial matrix)中^[52]。在老鼠、天竺鼠和野兔肝、肾中已发现环己烷羧酸芳构化活动^[50]。一些研究人员对动物体组织内环己烷羧酸的芳构化机制作出了如下解释^[50,51]:首先,硫酯辅酶 A(coenzyme A thioester)的形成活化环己烷羧酸,三磷酸腺苷(ATP, adenosine triphosphate)专性合成酶和鸟苷 5'-三磷酸(GTP, Guanosine 5'-triphosphate)专性合成酶(后者从公牛的肝中提取)对环己烷羧酸的活化起催化作用;然后,环己烷羧基辅酶 A(cyclohexanecarboxyl-coenzyme A)经芳构化形成苯甲酰基辅酶 A(benzoyl-coenzyme A),但目前还不清楚这是否通过羧基化作用后的直接脱氢作用或脱水作用;最后,苯甲酰基辅酶 A 与甘氨酸反应生成马尿酸。

5 体组织中已知的芳香族和脂环族化合物的共轭反应

共轭生物转化包括一系列合成反应,通过合成反应异生物素或其代谢物与内源化合物结合^[30,53]。异生物素及其代谢物与内源大分子如蛋白质、脂类和核酸的紧密结合被作为共轭反应的一种特别类型来引证^[53]。异生物素共轭反应具有不限制细胞功能,以形成容易通过尿液排泄的代谢终产物达到解毒目的的特性^[53]。通过与疏水分子的共轭结合可以降低异生物素脂溶性,从而使其能够通过尿液排泄^[34]。一般来说,共轭反应增加了异生物素在生理 pH 值范围内的可溶性^[24]。异生物素共轭反应的代谢产物相对而言是无毒性的,可以在生理 pH 值范围内溶解,易于通过肾小管分泌(renal tubular secretion)来清除^[54]。异生物素羧酸的结构和解离常数影响其共

轭反应的程度^[55,56]。要成为共轭底物,异生物素的结构中必须具有合适的能与共轭剂(conjugation agent)发生反应的官能团^[53]。酚通过 - OH 取代基与葡萄糖醛酸共轭形成醚,与硫酸共轭形成酯,而苯基脂肪酸通过 - COOH 官能团与葡萄糖醛酸和甘氨酸结合形成酯。

共轭反应的特征是形成一种活性中间产物。这种活性中间产物一般包括一种核苷和一种特殊的转运酶^[29,34,38,55]。在一些共轭反应中活性中间产物包括共轭剂,而另一些共轭反应中则包括异生物素^[29,57]。例如,葡萄糖苷酸和硫酸共轭反应的第一步是共轭剂的核苷酸调节活化,而氨基酸共轭的第一步是异生物素的核苷酸调节活化^[37,54,56]。氨基酸的共轭存在三步反应,其顺序为,异生物素——腺苷酸的形成,异生物素——硫脂辅酶 A (coenzyme A thioester) 的形成以及异生物素与氨基酸的最终结合。氨基酸共轭在线粒体中进行^[20],其基本营养需求是氨基酸前体、硫辛酸(lipoic acid)和泛酸(pantothenic acid)^[37]。葡萄糖醛酸的共轭也包括三步反应,其顺序为,尿苷二磷酸葡萄糖(uridine-diphospho-glucose)的形成,尿苷二磷酸葡萄糖醛酸(uridine-diphospho-glucuronic acid)的形成以及最终葡萄糖醛酸与异生物素结合。与葡萄糖醛酸的共轭在内质网中进行^[20],其基本的营养需求为葡萄糖前体物(glucogenic precursors)、烟酸(nicotinic acid)^[58]。硫酸的共轭同样包括三步反应,其先后顺序为,腺苷-5'-磷酸硫酸酐(adenosine-5'-phosphosulphate)的形成,3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸酐(3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulphate)的形成以及最终硫酸盐与异生物素结合。硫酸盐共轭是一个仅限于细胞液的代谢途径^[20],其基础营养需求为核苷、矿物质或硫的有机来源^[57]。

作为异生物素氨基酸共轭形式之一的马尿酸的生物合成之所以受到广泛关注^[58],可能是基于大多数哺乳动物苯甲酸代谢的主要途径为甘氨酸共轭这一事实^[37]。反刍动物在很小时就表现出共轭反应的能力,给一头完全哺乳的 15 日龄牛犊喂服含 56 mmol/L 剂量苯甲酸钠(sodium benzoate),6 h 后 68% 的苯甲酸钠以马尿酸的形式在尿液中排除^[59]。这种特殊共轭反应存在于老鼠肝脏线粒体基质(matrix)之中^[60,61],从牛肝脏线粒体中已分离出与马尿酸形成有关的转化酶^[62]。在牛肝脏中已鉴定出 2 种酰基辅酶 A:氨基酸 N 和酰基转移酶(amino acid N-acyltransferases),分别催化苯甲酸和水杨酸与甘氨酸的共轭作用,及苯乙酸和吲哚乙酸(indolacetic acid)与甘氨酸的共轭作用^[62]。肝脏是绵羊体内产生马尿酸的主要场所^[63],苯甲酸和马尿酸可以通过两性离子机制(zwitterion mechanism)以未解离的形式和甘氨酸的形式穿过线粒体内膜^[60]。当甘氨酸的输入量不足时,在线粒体中出现了可能具有防止总线粒体辅酶 A 酰化作用的苯甲酰辅酶 A 水解酶(benzoyl-coenzyme A hydrolase)^[60]。氨基酸共轭反应的不断进化可能是为了保护细胞免受线粒体中形成的异生物素酰基辅酶 A 的毒害作用^[36]。

苯甲酸与甘氨酸共轭遵循底物饱和 Michaelis - Menten 动力学(substrate-saturable Michaelis - Menten kinetics)原理^[64]。给绵羊瘤胃内灌注不同水平的苯甲酸钠时发现,当苯甲酸钠的灌注水平为 442 mmol/d 时,马尿酸日合成率达到最大值,即 19 mmol/kg W^{0.75}^[65]。大多数报道认为,甘氨酸或其前体物在哺乳动物体组织中消耗殆尽是体内试验中限制芳香酸共轭的最主要因素^[61]。形成马尿酸所需的甘氨酸可以从日粮采食或通过内源性前体物衍生获得^[24]。反刍动物肝脏对甘氨酸具有较高的摄入率,这可能与马尿酸的生物合成有关^[66]。动物蛋白水平会影响经泌尿系统排出的甘氨酸共轭物的总量。一头奶牛与芳香族酸共轭的甘氨酸,每天可损失高达 20 g 的氮^[67]。如果饲料日粮的马尿酸前体物含量较高而粗蛋白含量较低(如成熟的暖季型牧草),甘氨酸与酚酸共轭时消耗甘氨酸会加重氮素流失^[68]。限制酚酸与甘氨酸共轭的其他因素包括乙酰辅酶 A (acetyl coenzyme A) 和肉毒碱(carnitine)的有效性降低^[64]。

与葡萄糖苷酸和硫酸的共轭一样,葡萄糖苷酸与氨基酸的共轭对相同底物具有竞争途径^[38,69]。异生物素化合物的输入量对决定其与甘氨酸和葡萄糖苷酸共轭物(通过尿液等排出)中的相关比例明显具有重要作用。异生物素输入量低,氨基酸和硫酸共轭均显著高于葡萄糖苷酸共轭;异生物素输入量高,则葡萄糖苷酸的共轭过程占主导地位^[34,38,56]。不同共轭途径间的竞争作用可以用每个共轭体系的不同酶参数 V_{max} 、 K_m 来说明(来源于 Michaelis - Menten 动力学模型):

$$V = \frac{V_{max} [X]}{K_m + [X]}$$

这个方程表明,反应速率 V 是酶系统底物饱和时的异生物素共轭速率 (V_{\max})、酶系统的共轭速度达 $0.5 V_{\max}$ 时的异生物素浓度 (常数 K_m) 以及异生物素化合物浓度 $[X]$ 之间的一个函数。与葡萄糖苷酸共轭相比,氨基酸共轭具有较低的 V_{\max} 值和 K_m 值,是高亲和力/低容量的酶系统^[56,59];同样,与葡萄糖苷酸共轭相比,硫酸共轭具有较低的 V_{\max} 值和 K_m 值,是高亲和力/低容量的酶系统^[34,38];反之,相对于氨基酸和硫酸共轭,葡萄糖苷酸共轭是一个低亲和力/高容量的酶系统^[38,56,69]。

6 小结

在进化过程中,动物获得了代谢失活机制,对异生物素的代谢能力是一种化学防御机制。消化道中的芳香族和脂环族异生物素通过被动扩散穿过细胞内通道胞膜而被上皮层吸收,而这种扩散的动力主要来自于透膜浓度梯度、生理 pH 值和电势。从消化道吸收异生物素的主要途径是门静脉,吸收后的异生物素一进入血液立即与血液成分如蛋白质(主要为白蛋白)和红细胞结合,这种结合可以被认为是促进体内化合物清除的一种运输机制。结合反应遵循质量(浓度)作用定律,包含受饱和和动力学支配的自由可逆过程。结合反应限制了异生物素在血液与细胞内环境之间的分布,有利于异生物素达到肝脏等代谢场所。结合过程是一个双阶段的反应过程,阶段 1 包括氧化、还原反应和水解反应过程,反应后异生物素获得了新的化学基;阶段 2 包括异生物素与共轭剂的结合过程,通过共轭反应,异生物素转化为低毒性、高水溶性的代谢产物,异生物素失活。芳香族和脂环族化合物在体组织中的氧化反应主要有 1、氧化反应和芳构化反应。共轭反应主要有与葡萄糖苷酸共轭、与硫酸共轭、与氨基酸共轭 3 种途径,而这 3 种途径之间对底物存在竞争机制。

参考文献:

- [1] 龙瑞军,王元素,董世魁,等.利用芳香族化合物估测反刍动物采食量的潜力[J].草业学报,2004,13(2):1-10.
- [2] 龙瑞军,王元素,董世魁,等.常见芳香族和脂环族化合物在反刍家畜瘤胃内的代谢[J].动物营养学报,2004,16(3):13-19.
- [3] 龙瑞军,王元素,董世魁,等.异生物素及其代谢物在反刍家畜体组织的分泌与排泄机理[J].草业学报,2005,14(3):50-55.
- [4] 龙瑞军,董世魁,王元素,等.反刍家畜采食量的概念与研究方法[J].草业学报,2003,12(5):8-17.
- [5] Jackson M J. Drug transport across gastrointestinal epithelia[A]. In: Johnson L R. Physiology of the Gastrointestinal Tract, Second Edition[C]. New York, USA: Raven Press, 1987. 1597-1621.
- [6] Kurz H. Principles of drug absorption[A]. In: Aguiar A J. Pharmacology of Intestinal Absorption: Gastrointestinal Absorption of Drugs[C]. Oxford, U K: Pergamon Press, 1975. 245-296.
- [7] Albert A. Xenobiosis: Foods, drugs and poisons in the human body[M]. London, U K: Chapman and Hall, 1987.
- [8] Parsons D S. Physiological and biochemical implications of intestinal absorption[A]. In: Aguiar A J. Pharmacology of Intestinal Absorption: Gastrointestinal Absorption of Drugs[C]. Oxford, U K: Pergamon Press, 1975. 71-170.
- [9] Dobson A, Sellers A F, Gatewood V H. Dependence of Cr-EDTA absorption from the rumen on luminal osmotic pressure [J]. American Journal of Physiology, 1976, 231: 1595-1600.
- [10] Thorlacius S O. Effect of steam-volatile fatty acids and carbon dioxide on blood content of rumen papillae of the cow[J]. American Journal of Veterinary Research, 1972, 33: 427-430.
- [11] Prins R A. Rumen microbial metabolism of plant secondary compounds, xenobiotics and drugs[A]. In: Ooms L A A, Degryese A D, Van Miert A S J P A M. Physiological and Pharmacological Aspects of the Reticulo-Rumen[C]. Dordrecht, The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1987. 199-225.
- [12] Chasseaud L F. Processes of absorption, distribution, and excretion[A]. In: Hathway D E. Foreign Compound Metabolism in Mammals, Volume 1[C]. London, U K: The Chemical Society, 1970. 1-33.
- [13] Waynforth H B. General aspects of the administration of drugs and other substances[A]. In: Tuffery A A. Laboratory Animals: An Introduction for Experimenters, Second Edition[C]. Chichester, U K: John Wiley and Sons, 1995. 295-319.
- [14] Benet L Z, Sheiner L B. Pharmacokinetics: the dynamics of drug absorption, distribution, and elimination[A]. In: Gilman A G, Goodman L S, Rall T W, et al. The Pharmacological Basis of Therapeutics[C]. New York, USA: Macmillan Publishing Company, 1985. 3-34.
- [15] Spector A A, Fletcher J E. Nutritional effects on drug-protein binding[A]. In: Hathcock J N, Coon J. Nutrition and Drug Inter-

- relations[C]. New York ,USA :Academic Press ,1978. 447-473.
- [16] Pang K S. Fate of xenobiotics :physiologic and kinetic considerations[A]. In :Caldwell J ,Jakoby W B. Biological Basis of Detoxication[C]. New York ,USA :Academic Press ,1983. 213-250.
- [17] Pritchard J B ,James M O. Metabolism and urinary excretion[A]. In :Jakoby W B ,Bend J R ,Caldwell J. Metabolic Basis of Detoxication :Metabolism of Functional Groups[C]. London ,U K :Academic Press ,1982. 339-357.
- [18] Russel F G M ,Wouterse A C ,Hekman P ,*et al.* Quantitative urine collection in renal clearance studies in the dog [J]. Journal of Pharmacological Methods ,1987 ,17 :125-136.
- [19] Davis L E ,Westfall B A. Species differences in biotransformation and excretion of salicylate[J]. American Journal of Veterinary Research ,1972 ,33 :1253-1262.
- [20] Gillette J R ,Jollow D J. Drug metabolism in liver[A]. In :Becker F F. The Liver :Normal and Abnormal Functions ,Part A[C]. New York ,USA :Marcel Dekker ,Inc. ,1974. 165-201.
- [21] Estabrook R W. A cell's perspective of xenobiotics —decisions ,decisions ,decisions[A]. In :Caldwell J ,Paulson G D. Foreign Compound Metabolism[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1984. 3-6.
- [22] Opperhuizen A ,Gobas F A P C ,Hutzinger O. Unmetabolized compounds ,their properties and implications[A]. In :Caldwell J ,Paulson G D. Foreign Compound Metabolism[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1984. 109-117.
- [23] Sherwin C P. The fate of foreign organic compounds in the animal body[J]. Physiological Reviews ,1922 ,(2) :238-276.
- [24] Williams R T. Detoxication mechanisms :The metabolism and detoxication of drugs ,toxic substances and other organic compounds ,Second Edition[M]. London ,U K :Chapman and Hall ,1959.
- [25] Williams R T. The metabolic pathways of exogenous substances[A]. In :Roe F C C. Metabolic Aspects of Food Safety[C]. Oxford ,U K :Blackwell Scientific Publications ,1970. 215-243.
- [26] Williams R T. Inter-species variations in the metabolism of xenobiotics[J]. Biochemical Society Transactions ,1974 ,(2) :359-377.
- [27] Wilkinson C F. Metabolism and selective toxicity in an environmental context[A]. In :Caldwell J ,Paulson G D. Foreign Compound Metabolism[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1984. 109-117.
- [28] Gillette J R. Overview of drug-protein binding[J]. Annals of the New York Academy of Science ,1973 ,226 :6-17.
- [29] Williams R T ,Millburn P. Detoxication mechanisms —the biochemistry of foreign compounds[A]. In :Blashko H K F. Physiological and Pharmacological Biochemistry ,Biochemistry[C]. London ,U K :Butterworths and University Park Press ,1975. 211-266.
- [30] Parke D V. The Biochemistry of foreign compounds[M]. Oxford ,U K :Pergamon Press ,1968.
- [31] Scheline R R. Handbook of mammalian metabolism of plant compounds[M]. Boca Raton ,USA :CRC Press ,1991.
- [32] Caldwell J. Xenobiotic metabolism :an introduction[A]. In :Hutson D H ,Caldwell J ,Paulson G D. Intermediary Xenobiotic Metabolism in Animals :Methodology ,Mechanisms and Significance[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1989. 3-12.
- [33] Bresnick E. Localization of drug-metabolizing enzymes[A]. In :Caldwell J ,Paulson G D. Foreign Compound Metabolism[C]. London ,U K :Taylor & Francis ,1984. 7-16.
- [34] Mulder G J. Introduction[A]. In :Mulder G J. Conjugation Reactions in Drug Metabolism :An Integrated Approach. Substrates ,Co-substrates ,Enzymes and their Interactions In Vivo and In Vitro[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1990. 1-3.
- [35] Caldwell J ,Hutt A J. Prediction of metabolic pathways —current status and future prospects[A]. In :Caldwell J ,Paulson G D. Foreign Compound Metabolism[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1984. 101-108.
- [36] Caldwell J ,Idle J R ,Smith R L. The amino acid conjugations[A]. In :Gram T E. Extrahepatic Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics[C]. New York ,USA :SP Medical and Scientific Books ,1980. 453-477.
- [37] Millburn P. Biotransformation of xenobiotics by animals[A]. In :Harborne J B. Biochemical Aspects of Plant and Animal Coevolution[C]. London ,U K :Academic Press ,1978. 35-73.
- [38] Pang K S. Kinetics of conjugation reactions in eliminating organs[A]. In :Mulder G J. Conjugation Reactions in Drug Metabolism :An Integrated Approach. Substrates ,Co-substrates ,Enzymes and their Interactions In Vivo and In Vitro[C]. London ,U K :Taylor and Francis ,1990. 5-39.

- [39] Smith G S, Watkins J B. Biotransformations of xenobiotics in tissues of cattle and sheep[J]. Canadian Journal of Animal Science, 1984, 64:278-280.
- [40] Eadsforth C V, Hutson D H. Formation of carbohydrate, sulphate and other xenobiotic conjugates[A]. In: Caldwell J, Paulson G D. Foreign Compound Metabolism[C]. London, U K: Taylor and Francis, 1984. 171-184.
- [41] Alvares A P. Oxidative biotransformation of drugs[A]. In: Arias I M, Popper H, Schachter D *et al.* Biology and Pathobiology [C]. New York, USA: Raven Press, 1982. 265-280.
- [42] Gurr M I, Harwood J L. Lipid biochemistry: An introduction, Fourth Edition[M]. London, U K: Chapman and Hall, 1991.
- [43] Gibson G G, Bains S K. Cytochrome P-450 isoenzymes involved in fatty acid metabolism[J]. Biochemical Society Transactions, 1985, (13): 850-852.
- [44] Dakin H D. Oxidations and reductions in the animal body, Second Edition[M]. London, U K: Longmans, 1922.
- [45] Yamada J, Itoh S, Horie S, *et al.* Chain-shortening of a xenobiotic acyl compound by the peroxisomal beta-oxidation system in rat liver[J]. Biochemical Pharmacology, 1986, 35: 4363-4368.
- [46] Leloir L F, Munoz J M. Butyrate oxidation by liver enzymes[J]. Journal of Biological Chemistry, 1944, 153: 53-60.
- [47] Schulz H. Beta-oxidation of fatty acids[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1991, 1081: 109-120.
- [48] Harwood J L. Lipid metabolism[A]. In: Gunstone F D, Harwood J L, Padley F B. The Lipid Handbook, Second Edition[C]. London, U K: Chapman and Hall, 1994. 605-633.
- [49] Ranganathan S, Ramasarma T. The metabolism of phenolic acids in the rat[J]. Biochemical Journal, 1974, 140: 517-522.
- [50] Mitoma C, Posner H S, Leonard F. Aromatization of hexahydrobenzoic acid by mammalian liver mitochondria[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1958, 27: 156-160.
- [51] Babior B M, Bloch K. Aromatization of cyclohexanecarboxylic acid[J]. Journal of Biological Chemistry, 1966, 241: 3643-3651.
- [52] Svardal M, Scheline R R. The aromatization of cyclohexanecarboxyl-CoA to hippuric acid by guinea pig liver mitochondria: Submitochondrial localization[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 1985, 65: 107-115.
- [53] Caldwell J. Conjugation reactions in the metabolism of xenobiotics[A]. In: Arias I M, Popper H, Schachter D *et al.* The Liver: Biology and Pathobiology[C]. New York, USA: Raven Press, 1982. 407-427.
- [54] Williams R T. The biogenesis of conjugation and detoxication products[A]. In: Bernfeld P. Biogenesis of Natural Compounds, Second Edition[M]. Oxford, U K: Pergamon Press, 1967. 589-639.
- [55] Caldwell J. Conjugation reactions in foreign compound metabolism: Definition, consequences, and species variation[J]. Drug Metabolism Reviews, 1982, 13: 745-777.
- [56] Hutt J H, Caldwell J. Amino acid conjugation[A]. In: Mulder G J. Conjugation Reactions in Drug Metabolism: An Integrated Approach[C]. London, U K: Taylor and Francis, 1990. 273-305.
- [57] Williams R T. Nutrients in drug detoxication reactions[A]. In: Hathcock J N, Coon J. Nutrition and Drug Interrelations[M]. New York, USA: Academic Press, 1978. 303-318.
- [58] Hirom P C, Millburn P. Enzymic mechanisms of conjugation[A]. In: Hathway D E. Foreign Compound Metabolism in Mammals[C]. London, U K: The Chemical Society, 1979. 132-158.
- [59] Ringer A I. On the maximum production of hippuric acid in animals with consideration of the origin of glycocholic acid in the animal body[J]. Journal of Biological Chemistry, 1911, (10): 327-338.
- [60] Gatley S J, Sherratt H S A. The synthesis of hippurate from benzoate and glycine by rat liver mitochondria[J]. Biochemical Journal, 1977, 166: 39-47.
- [61] James M O, Bend J R. Perinatal development of, and effect of chemical pretreatment on, glycine N-acyltransferase activities in liver and kidney of rabbit and rat[J]. Biochemical Journal, 1978, 172: 293-299.
- [62] Nandi D L, Lucas S V, Webster L T J. Benzoyl-coenzyme A: glycine N-acyltransferase and phenylacetyl-coenzyme A: glycine N-acyltransferase from bovine liver mitochondria[J]. Journal of Biological Chemistry, 1979, 254: 7230-7237.
- [63] Cremin J D J, McLeod K R, Harmon D L, *et al.* Portal and hepatic fluxes in sheep and concentrations in cattle ruminal fluid of 3-(4-hydroxyphenyl) propionic, benzoic, 3-phenylpropionic, and trans-cinnamic acids[J]. Journal of Animal Science, 1995, 73: 1766-1775.

- [64] Kubota K, Ishizaki T. Dose-dependent pharmacokinetics of benzoic acid following oral administration of sodium benzoate to humans[J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1991, 41: 363-368.
- [65] Martin A. K. Metabolism of benzoic acid by sheep[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1966, 17: 496-500.
- [66] Rook J A F, Thomas P C. *Nutritional physiology of farm animals*[M]. London, U K: Longman, 1983.
- [67] Hannah Dairy Research Institute. IV. The aromatic acids[A]. Report for the three years ended 31st March[C]. Ayr, U K: Hannah Dairy Research Institute, 1968. 35-36.
- [68] Lowry J B, Sumpter E A. Effect of free phenolic acids on rumen function in sheep[A]. In: Rose M. *Herbivore Nutrition Research*[C]. Brisbane, Australia: Australian Society of Animal Production, 1987. 51-52.
- [69] Mulder G J. Competition between conjugations for the same substrate[A]. In: Mulder G J. *Conjugation Reactions in Drug Metabolism: An Integrated Approach. Substrates, Co-substrates, Enzymes and their Interactions In Vivo and In Vitro*[C]. London, U K: Taylor and Francis, 1990. 41-49.

**Absorption, transformation and distribution of xenobiotics and
their metabolites in ruminants tissues**

LONG Rui-jun^{1,2}, WANG Yuan-su², DONG Shi-kui³, BAI Yan², J Pagella⁴

(1. Northwest Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008, China; 2. Grassland Science College of Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Institute of Resources Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 4. Universidad Nacional de La Pampa, Argentina)

Abstract: Xenobiotics such as aromatic and alicyclic compounds are mainly absorbed in the gut through the epithelial layer by passive diffusion across the membranes of the intracellular channel. Once the xenobiotics have entered the blood, they conjugate instantly with blood constituents such as protein and red cells, especially albumin. As a consequence, the conjugation limits the distribution of the xenobiotics between blood and the intercellular environment and facilitates their migration to the sites of metabolism, the main one of which is the liver. The deactivation of xenobiotics in animals occurs by a biphasic process. Xenobiotic aromatic and alicyclic compounds reactions involve -, -oxidations and aromatisation. By conjugation, the xenobiotics reduce lipid solubility which makes urinary excretion possible. The three main conjugating pathways between competing substrates are glucuronide, amino acid and sulphuric acid conjugations.

Key words: ruminants; xenobiotics; body tissues; absorption; transformation; distribution