

· 药 物 动 力 学 研 究 ·

黄芪多糖、黄芪甲苷对大黄酸肠吸收的影响

程欢, 米雅慧, 刘明平, 于洋, 黎同明(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 研究不同浓度大黄酸在大鼠不同肠段的吸收特性以及黄芪多糖、黄芪甲苷分别对大黄酸肠吸收的影响。**方法** 建立检测大鼠肠道灌流液中大黄酸含量的高效液相色谱(HPLC)法, 采用在体单向肠灌流模型, 通过测定肠灌流液中大黄酸的浓度, 计算大黄酸的吸收速率常数(K_a)和有效渗透率(P_{eff}), 以研究其低、中、高(27.2, 47.6, 68.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3个浓度在大鼠不同肠段的吸收特性, 并观察黄芪多糖、黄芪甲苷对大黄酸肠吸收的影响。**结果** 大黄酸的测定方法专属性、线性关系良好, 精密度、准确度、稳定性、基质效应、绝对回收率均符合相关规定。大黄酸在 27.2~68.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度范围内, 空肠、回肠中 K_a 、 P_{eff} 值显著高于十二指肠和结肠。与黄芪多糖配伍后, 大黄酸在空肠中 K_a 值减小($P<0.05$); 与黄芪甲苷配伍后, 大黄酸在十二指肠中的 K_a 、 P_{eff} 值增大($P<0.05$), 在回肠中的 P_{eff} 值增大($P<0.05$)。**结论** 大黄酸在空肠和回肠中的吸收效果优于十二指肠和结肠, 黄芪多糖可抑制大黄酸在空肠中的吸收, 黄芪甲苷可显著促进大黄酸在十二指肠、回肠中的吸收。

关键词: 大黄酸; 高效液相色谱法; 单向肠灌流模型; 黄芪多糖; 黄芪甲苷; 肠吸收; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)02-0240-05

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.02.013

Study on Effects of Astragalus Polysaccharides and Astragaloside IV on Intestinal Absorption of Rhein

CHENG Huan, MI Yahui, LIU Mingping, YU Yang, LI Tongming(School of Pharmaceutical Science, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To study the absorption characteristics of different concentrations of rhein in different intestinal segments of rats, and the effects of Astragalus polysaccharide and astragaloside IV on intestinal absorption of rhein. **Methods** High Performance Liquid Chromatography(HPLC)method was established for the determination of rhein in rat intestinal perfusion liquid, and the concentration was determined using the *in situ* single-pass perfusion model. The absorption rate constant (K_a) and effective permeability (P_{eff}) of rhein were calculated to study the absorption characteristics of low, medium and high concentrations(27.2, 47.6 and 68.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively) in different intestinal segments of rats. The effects of Astragalus polysaccharide and astragaloside IV on the intestinal absorption of rhein were further studied. **Results** The determination method of rhein has a good linear relationship, and its precision, accuracy, stability, matrix effect and absolute recovery all accord with relevant regulations. In the concentration range of rhein 27.2-68.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, K_a and P_{eff} values in jejunum and ileum were significantly higher than those in duodenum and colon. When combined with Astragalus polysaccharide, the K_a value of rhein decreased in jejunum($P<0.05$). When combined with astragaloside IV, the K_a and P_{eff} values of rhein in duodenum increased($P<0.05$), and P_{eff} values in ileum increased($P<0.05$). **Conclusion** The absorption of rhein in jejunum and ileum was better than that in duodenum and colon. Astragalus polysaccharide inhibits the absorption of rhein in jejunum, while astragaloside IV can significantly promote the absorption of rhein in duodenum and ileum.

Keywords: Rhein; HPLC; single-pass perfusion method; astragalus polysaccharides; Astragaloside IV; intestinal absorption; rats

收稿日期: 2020-02-21

作者简介: 程欢, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药药性配伍。Email: 2457401515@qq.com。通信作者: 刘明平, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药药性配伍。Email: liumingpingfly@163.com。

大黄酸(Rhein)是蓼科植物大黄中的主要活性成分之一,因其具有抗菌抗炎、抗肝纤维化、保护肾功能、抗肿瘤、免疫调节等广泛药理活性而成为研究热点^[1-2]。大黄-黄芪是临床常用药对,二者配伍,攻补兼施,常用于治疗慢性肾衰、尿毒症等,治疗慢性肾炎、肾功能衰竭的常用中成药尿毒清颗粒、肾衰合剂、肾康注射液等均含大黄-黄芪药对^[3]。黄芪多糖(Astragalus polysaccharides)、黄芪甲苷(Astragaloside IV)是黄芪的主要活性成分,在免疫系统、循环系统、消化系统等方面都有明确的药理作用^[4-7]。口服是中药最常见的给药形式,药物经口服后,活性成分的肠吸收是药物起效的关键。许多中药口服给药因吸收差、生物利用度低而限制了其临床药效的发挥。本课题组前期预试验基于体外人体结肠癌 Caco-2 细胞模型,对黄芪多糖、黄芪甲苷影响大黄酸肠吸收的动力学进行了研究。在此基础上,本实验进一步采用在体大鼠肠灌流模型,分别考察两种成分在不同肠段对大黄酸肠吸收的影响,旨在从胃肠吸收角度阐释大黄、黄芪配伍的作用机制,为临床用药提供依据。

1 材料与仪器

1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 36 只,体质量(220±20)g,广州中医药大学实验动物中心,许可证号:SCXK(粤)2019-0047。

1.2 药品及试剂 大黄酸对照品(批号:110757-201607,纯度:99.3%),中国食品药品检定研究院;黄芪甲苷(纯度≥98%),上海源叶生物科技有限公司;黄芪多糖(纯度>70%)、1,2-丙二醇、乙醇、酚红,天津市大茂化学试剂公司;甲醇为色谱纯,德国 Merck 公司;磷酸为分析纯,上海宝曼生物科技有限公司;氨基甲酸乙酯、1,8-二羟基蒽醌,上海麦克林生化科技有限公司;Kreb-Ringer's(K-R)试液(称取 CaCl₂ 0.37 g 加纯水溶解,分别称取 NaCl 7.8 g、KCl 0.35 g、MgCl₂ 0.02 g、NaH₂PO₄ 0.32 g、葡萄糖 1.4 g,纯水溶解后加入 CaCl₂ 溶液,再加入纯水定容至 1 000 mL,现配现用);实验室用水为纯水。

1.3 仪器 UltiMate 3000 高效液相色谱仪,日本岛津公司;Kinetex C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm)色谱柱,美国 Phenomenex 公司;BT100-02/DG-4 蠕动泵,保定齐力恒流泵有限公司;Synthesis 型超纯水仪,德国 Merck-millipore 公司;XR 205SM-DR 型分析天平(0.01 mg),瑞士 Precisa 公司;5810R 高速离心机,德国 Eppendorf 公司;恒温水浴锅,上海福玛

科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 对照品和内标溶液的配制 取大黄酸对照品适量,精密称定,加甲醇配制成浓度为 136 μg·mL⁻¹的大黄酸对照品溶液;取 1,8-二羟基蒽醌对照品适量,精密称定,加适量乙醇,配制成浓度为 92 μg·mL⁻¹的内标溶液。

2.1.2 大黄酸灌流液的配制 分别精密量取大黄酸对照品溶液 25、35、50 mL 于 100 mL 容量瓶,加入 1 mL 酚红,最后用 K-R 试液定容。各浓度组平行配制 3 份,每平行组的 K-R 液中加入等量乙醇助溶,配制成浓度分别为 27.2、47.6、68.0 μg·mL⁻¹的灌流液。

2.1.3 含黄芪多糖、黄芪甲苷和大黄酸灌流液的配制 精密量取大黄酸、黄芪多糖母液(大黄酸 13.6 mg+黄芪多糖 37.2 mg,以 1,2-丙二醇超声溶解并定容于 100 mL 容量瓶)35 mL 于 100 mL 容量瓶中,用 K-R 试液稀释后加入 1 mL 酚红,最后用 K-R 试液定容,制得大黄酸和黄芪多糖浓度分别为 47.6、130.2 μg·mL⁻¹的灌流液。精密量取大黄酸、黄芪甲苷母液(大黄酸 13.6 mg+黄芪甲苷 24.8 mg 以 1,2-丙二醇超声溶解并定容于 100 mL 容量瓶)35 mL,用同样的方法制得大黄酸和黄芪甲苷浓度分别为 47.6、86.8 μg·mL⁻¹的灌流液。各浓度平行组的 K-R 液中加入等量乙醇助溶。

2.2 色谱条件 色谱柱:Kinetex C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(75:25);流速:1 mL·min⁻¹;进样量:10 μL;柱温:室温;托盘温度:4 ℃;检测波长:245 nm。

2.3 大鼠单向肠灌流实验 取禁食、自由饮水 24 h 的 SD 雄性大鼠,称体质量,用 25%氨基甲酸乙酯进行腹腔麻醉(5 mL·kg⁻¹),待大鼠呈现麻醉状态时,将其放置在经预热的 37 ℃恒温电热毯上并固定。沿动物腹中线将腹腔打开,分离出十二指肠、空肠、回肠、结肠,各取适宜长度将肠段两端部分切开,插管并结扎。使用 37 ℃生理盐水浸润的脱脂棉覆盖于伤口,管道出口处不可高于管道入口处,防止灌流液由于重力原因无法流出。先将空白 K-R 液以 2 mL·min⁻¹的流速泵入肠道内,清理肠道并平衡肠道内环境,平衡 10 min 后再将流速调整至 0.2 mL·min⁻¹;继续平衡 10 min 后,将空白 K-R 液排尽。将已配制完成的样品灌流液以 0.2 mL·min⁻¹的流速泵入肠腔

中,以管道出口滴出第1滴灌流液时开始计时,待肠道环境稳定10 min后,使用样品管接收。每15 min更换1次样品管,直至90 min。所有灌流液均放置于37℃恒温水浴锅中。样品收集完成后,将大鼠处死,取下被灌流肠段放入盛有K-R液的玻璃皿中,测量肠段长度(l)和周长(d),并依据周长计算半径(r)。

2.4 灌流液处理 移取灌流液,以13 500 $r \cdot \min^{-1}$ 离心10 min,取上清液0.75 mL,加入25 μL 内标,过0.45 μm 的微孔滤膜,进样分析。

2.5 数据处理及分析^[8] 本实验采用酚红法作为校正方法,并计算待测物在肠道中的吸收速率常数(Absorption Rate Constant, K_a)与有效渗透率(Effective permeability, P_{eff}): $C_{\text{out}}(\text{correct}) = C_{\text{out}} C_{\text{pr}}(\text{in}) / C_{\text{pr}}(\text{out})$; $K_a = (1 - [C_{\text{out}}(\text{correct}) / C_{\text{in}}]) Q / \pi r^2 l$; $P_{\text{eff}} = Q \ln[C_{\text{in}} / C_{\text{out}}(\text{correct})] / 2 \pi r l$ 。

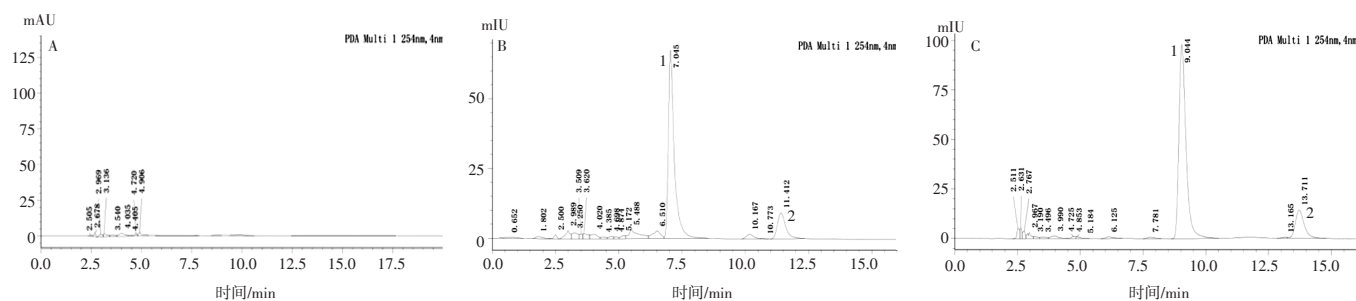
公式中, C_{in} 、 C_{out} 分别为恒流状态下进口和出口的灌流液样品质量浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), $C_{\text{out}}(\text{correct})$ 为出口经校正后的真实质量浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), $C_{\text{pr}}(\text{in})$ 、 $C_{\text{pr}}(\text{out})$ 分

别为在恒流状态下进口和出口的灌流液中酚红的质量浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), Q 为肠道灌流液的流速($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$), r 和 l 分别为被灌流肠段的半径和长度(cm)。

采用SPSS 19.0软件进行统计分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用LSD和Dunnett T3方法分析。

2.6 方法学考察

2.6.1 专属性实验 大黄酸对照品溶液用K-R试液稀释,加入1.0 mL酚红母液,配制成灌流液灌流,待大鼠肠道灌流平衡后取0.75 mL,加入同体积内标。将空白灌流液、含药标准液、灌流液在色谱条件下进行检测。结果标准溶液与灌流液中样品均峰形良好,无杂质峰干扰,与内标无相互干扰,符合要求。见图1。实验结果发现,大黄酸经过大鼠肠道后的保留时间有所改变,由7.0 min后延至9.0 min,但不会影响实验结果。可能由于灌流液经过肠道后会溶入部分肠液,大黄酸极性较大,溶入肠液后使保留时间后延。



注:空白灌流液(A);标准品溶液(B);样品灌流液(C)。1.大黄酸;2.内标物

图1 大黄酸灌流液的高效液相色谱(HPLC)专属性考察结果

Figure 1 HPLC specificity investigation results of rhein in intestinal fluid

2.6.2 标准曲线制备 用K-R液对大黄酸标准品母液进行倍比稀释,得到系列浓度的标准液,分别取0.75 mL,加入25 μL 内标溶液。将大黄酸标准品母液50 mL加入10 mL酚红试液,用同样的方法得到系列浓度的标准酚红溶液。于“2.2”项色谱条件下进行检测,以待测物峰面积与内标峰面积之比为纵坐标(Y),分析物浓度为横坐标(X)绘制标准曲线。结果得到大黄酸标准溶液回归方程 $Y = 16\,777X + 62\,446$, $r = 0.999\,6$ ($n = 7$),大黄酸在1.07~68.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好,最低定量限(LLOQ)=0.70 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;大黄酸标准溶液中酚红的回归方程 $Y = 20\,783X - 16.618$, $r = 0.999\,6$ ($n = 7$),酚红在0.72~46.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好,LLOQ=0.09 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.6.3 精密度考察 分别配制3个质量浓度大黄酸标

准品溶液(3.15、26.5、50.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),每个浓度平行进样6次,连续测定3 d,计算精密度与准确度。结果表明大黄酸低、中、高3个浓度的日内精密密度为0.32%、0.18%、1.83%($n = 6$);日间精密密度为0.64%、0.32%、1.28%($n = 3$),RSD值符合要求。

2.6.4 稳定性考察 分别配制3个质量浓度大黄酸标准品溶液(3.15、26.5、50.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),于配制后5 min、10 min、30 min、1 h、2 h、12 h进样检测,测得峰面积。结果表明,12 h内,大黄酸峰面积RSD分别为1.08%、0.39%、1.64%,表明在该条件下,大黄酸稳定性良好。

2.6.5 基质效应与绝对回收率 于空白K-R液中加入大黄酸,配制成3.15、26.5、50.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的大黄酸溶液,平行进样6次,测得峰面积(1);取大黄酸母

液适量, 稀释成不同浓度, 平行进样 6 次, 测得峰值(2); 将 K-R 试液配制的不同浓度样品, 以 $13\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取出, 平行进样 6 次, 测得峰面积(3)。将(1)与(2)的色谱峰面积比值作为基质效应考察结果; (3)与(2)的色谱峰面积的比值作为绝对回收率考察结果。结果显示, 大黄酸在这 3 种浓度下, K-R 液的基质效应分别为 102.38%、101.54%、100.06%, RSD 分别为 2.45%、1.30%、0.27%, 均小于 3%。样品的绝对回收率分别为 102.35%、104.27%、99.98%, RSD 分别为 1.06%、0.68%、0.19%, 小于 2%。表明该基质及处理方法对样品信号无影响, 可用于实验。

2.7 大黄酸在大鼠各肠段的吸收 取“2.1.2”项下大黄酸灌流液, 按“2.3”项下进行大鼠单向肠灌流实验。计算不同浓度大黄酸灌流液在各肠段及同一肠段中的吸收速率常数和有效渗透率。结果见表 1 和表 2。

表 1 各肠段中不同浓度灌流液大黄酸的吸收速率常数($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$; $n=4$)

Table 1 K_a values of rhein in different concentrations of perfusate in different intestinal segments($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$; $n=4$)

浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	十二指肠	空肠	回肠	结肠
27.2	0.82 ± 0.65	1.05 ± 0.53	1.29 ± 0.48	0.93 ± 0.39
47.6	0.67 ± 0.25	$1.25 \pm 0.32^*$	$1.39 \pm 0.31^*$	$0.58 \pm 0.19^{\Delta\Delta}$
68.0	0.43 ± 0.35	$1.00 \pm 0.29^*$	$1.48 \pm 0.47^{**}$	$0.45 \pm 0.26^{\Delta\Delta*}$

注: 与十二指肠段比较, $*P<0.05$; 与空肠段比较, $*P<0.05$; 与回肠段比较, $\Delta P<0.05$; 与浓度为 $27.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组比较, $*P<0.05$

在不同肠段中, 大黄酸灌流液浓度为 $27.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 各肠段 K_a 值比较均无统计学意义($P>0.05$)。当浓度为 $47.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 与十二指肠相比, 空肠和回肠 K_a 值显著升高($P<0.05$); 与空肠相比, 回肠 K_a 值差异无统计学意义($P>0.05$), 结肠 K_a 值显著降低($P<0.05$); 与回肠相比, 结肠 K_a 值显著降低($P<0.05$)。当浓度为 $68.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 大黄酸在各肠段的 K_a 值变化情况与浓度为 $47.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的变化相同。

表 2 各肠段中不同浓度灌流液大黄酸的有效渗透率($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-4}\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$; $n=4$)

Table 2 P_{eff} values of rhein in different concentrations of perfusate in different intestinal segments($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-4}\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$; $n=4$)

浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	十二指肠	空肠	回肠	结肠
27.2	0.87 ± 0.28	$1.37 \pm 0.48^*$	$1.72 \pm 0.59^*$	$0.68 \pm 0.26^{\Delta\Delta}$
47.6	0.66 ± 0.18	$1.58 \pm 0.47^*$	$1.69 \pm 0.36^*$	$0.57 \pm 0.19^{\Delta\Delta}$
68.0	$0.56 \pm 0.28^*$	$1.11 \pm 0.44^*$	$1.74 \pm 0.29^{**}$	$0.46 \pm 0.29^{\Delta\Delta}$

注: 与十二指肠段比较, $*P<0.05$; 与空肠段比较, $*P<0.05$; 与回肠段比较, $\Delta P<0.05$; 与浓度为 $27.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组比较, $*P<0.05$

在同一肠段中, 不同浓度的大黄酸在十二指肠、空肠、回肠中的 K_a 值均无统计学意义($P>0.05$); 而在结肠中, 高浓度大黄酸 K_a 值显著低于低浓度大黄酸的 K_a 值($P<0.05$)。

在不同肠段中, 大黄酸灌流液浓度为 $27.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 与十二指肠相比, 空肠、回肠 P_{eff} 值显著升高($P<0.05$), 结肠 P_{eff} 值差异无统计学意义($P>0.05$); 与空肠相比, 回肠 P_{eff} 值差异无统计学意义($P>0.05$), 结肠 P_{eff} 值显著降低($P<0.05$); 与回肠相比, 结肠中 P_{eff} 值显著降低($P<0.05$)。当浓度为 $47.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 大黄酸在各肠段的 P_{eff} 值变化与浓度为 $27.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的变化相同。当浓度为 $68.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 与十二指肠相比, 空肠、回肠 P_{eff} 值显著升高($P<0.05$), 结肠 P_{eff} 值差异无统计学意义($P>0.05$); 与空肠相比, 回肠 P_{eff} 值升高($P<0.05$), 结肠 P_{eff} 值显著降低($P<0.05$)。与回肠相比, 结肠 P_{eff} 值显著降低($P<0.05$)。

在同一肠段中, 不同浓度的大黄酸在空肠、回肠、结肠中的 P_{eff} 值差异均无统计学意义($P>0.05$); 而在十二指肠中, 高浓度大黄酸的 P_{eff} 值显著低于低浓度大黄酸的 P_{eff} 值($P<0.05$)。

2.8 黄芪多糖、黄芪甲苷对大黄酸在大鼠各肠段吸收的影响 取“2.1.3”项下不同浓度的大黄酸、黄芪多糖灌流液和大黄酸、黄芪甲苷灌流液, 按“2.3”项下进行大鼠单向肠灌流实验, 计算与黄芪多糖、黄芪甲苷配伍后, 大黄酸在各肠段的 K_a 和 P_{eff} 值。结果见表 3 和表 4。

表 3 与黄芪多糖、黄芪甲苷配伍后大黄酸在各肠段的吸收速率常数($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$; $n=4$)

Table 3 K_a values of rhein in different intestinal segments when combined with Astragalus polysaccharide and astragaloside IV, respectively($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$; $n=4$)

组别	十二指肠	空肠	回肠	结肠
大黄酸 $47.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组	0.67 ± 0.25	1.25 ± 0.32	1.39 ± 0.31	0.58 ± 0.19
大黄酸 $47.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ + 黄芪多糖 $130.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组	0.54 ± 0.17	$0.90 \pm 0.31^*$	1.38 ± 0.51	0.48 ± 0.32
大黄酸 $47.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ + 黄芪甲苷 $86.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组	$7.93 \pm 0.96^*$	1.49 ± 0.36	1.64 ± 0.38	0.48 ± 0.27

注: 与大黄酸组比较, $*P<0.05$

与黄芪多糖配伍后, 大黄酸在空肠中 K_a 值减小($P<0.05$), 在十二指肠、回肠、结肠中 K_a 值差异无统计学意义($P>0.05$); 与黄芪甲苷配伍后, 大黄酸在十二指肠中 K_a 值显著增大($P<0.05$), 在空肠、回肠、结肠中 K_a 值差异无统计学意义($P>0.05$)。

表4 与黄芪多糖、黄芪甲苷配伍后大黄酸在各肠段的有效渗透率($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$; $n=4$)

Table 4 P_{eff} values of rhein in different intestinal segments when combined with Astragalus polysaccharide and astragaloside IV, respectively($\bar{x} \pm s$, $\times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$; $n=4$)

组别	十二指肠	空肠	回肠	结肠
大黄酸 47.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组	0.66 $\pm$ 0.18	1.58 $\pm$ 0.47	1.69 $\pm$ 0.36	0.57 $\pm$ 0.19
大黄酸 47.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ +黄芪多糖 130.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组	0.65 $\pm$ 0.17	1.46 $\pm$ 0.29	1.67 $\pm$ 0.60	0.56 $\pm$ 0.29
大黄酸 47.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ +黄芪甲苷 86.8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组	10.12 $\pm$ 2.27*	1.72 $\pm$ 0.29	2.99 $\pm$ 0.87*	0.34 $\pm$ 0.24

注:与大黄酸组比较,* $P < 0.05$

与黄芪多糖配伍后,大黄酸在各肠段 P_{eff} 值差异无统计学意义($P > 0.05$)。与黄芪甲苷配伍后,大黄酸在十二指肠、回肠中 P_{eff} 值增大($P < 0.05$),在空肠和结肠中 P_{eff} 值差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

肠道为口服药物吸收的主要吸收场所,不同肠段内环境的差异会对药物的吸收产生不同的效果。大黄酸在各肠段均有较高的有效渗透率(P_{eff}), P_{eff} 值均 $> 2 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 。根据文献[9],当药物在大鼠体内的 $P_{\text{eff}} > 2 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,表示药物为易吸收物质,可知大黄酸属于易吸收物质。

本研究结果显示,低浓度时,大黄酸在大鼠十二指肠、空肠、回肠、结肠中的 K_a 、 P_{eff} 值无显著性差异,与邱一行等^[10]的实验结果一致。而中、高浓度的大黄酸在大鼠不同肠段的吸收存在差异。中浓度时,在空肠和回肠的吸收效果优于十二指肠和结肠,空肠和回肠的吸收效果没有明显差异,十二指肠和结肠的吸收效果也没有明显差异。高浓度时,大黄酸在空肠和回肠的吸收效果也优于十二指肠和结肠,十二指肠和结肠的吸收效果没有明显差异,但回肠中 K_a 、 P_{eff} 值高于空肠,说明在高浓度时,大黄酸在回肠中的吸收效果优于空肠。综合以上结果,大黄酸的主要吸收部位在小肠中的空肠和回肠,且同一浓度的大黄酸在不同肠段的吸收存在差异。

本研究分析了大鼠同一肠段中不同浓度的大黄酸肠吸收情况,结果显示,不同浓度的大黄酸在十二指肠、结肠中 K_a 、 P_{eff} 值随浓度增大而减小,即其吸收效果随浓度升高而降低,而在空肠、回肠中 K_a 、 P_{eff} 值无明显变化。不同浓度的大黄酸在同一肠段中的吸收存在差异,推测大黄酸在十二指肠、结肠内的吸收方式为主动转运或被动扩散,而其在空肠、回肠中的吸收方式是以载体介导的,其中原因有待进一步深入探讨。

黄芪多糖对大黄酸在空肠中的吸收具有抑制作用,而黄芪甲苷可显著促进大黄酸在十二指肠、回肠中的吸收,且大黄酸与黄芪甲苷配伍后,十二指肠中的 K_a 、 P_{eff} 值增大数倍。大黄酸在肠道中的吸收不受外排蛋白P-糖蛋白的影响^[11],可受外排蛋白BCRP或MRPs家族外排蛋白的影响^[12]。肠道上皮细胞内的外排蛋白会对药物在肠道内的吸收产生影响,黄芪多糖、黄芪甲苷对大黄酸吸收呈现抑制或促进的不同作用,是否与以大黄酸为底物的外排蛋白BCRP或MRPs家族MRP2、MRP3、BCRP的影响有关,本课题组后续将开展相关研究。同时,尚需对黄芪多糖合用黄芪甲苷对大黄酸 K_a 、 P_{eff} 值的影响开展研究,以较全面地反映黄芪活性成分对大黄酸肠吸收的影响。

参考文献:

- [1] 郑舟琴,杜宏. 大黄酸药理作用的新进展[J]. 重庆医学, 2019, 48(22): 3897-3901.
- [2] SUN H, LUO G, CHEN D. A comprehensive and system review for the pharmacological mechanism of action of rhein, an active anthraquinone ingredient[J]. Front Pharmacol. 2016, 7: 247.
- [3] 宫仁豪,李海燕,梁幼雅,等. 大黄黄芪药对对慢性肾衰竭大鼠的肾保护作用与胃肠激素水平变化的相关性研究[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(11): 2430-2433.
- [4] 高旭,李丽芬,刘斌钰. 黄芪多糖对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2010, 26(04): 42-44.
- [5] XU W, SHAO X, TIAN L, et al. Astragaloside IV ameliorates renal fibrosis via the inhibition of mitogen-activated protein kinases and antiapoptosis in vivo and in vitro[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2014, 350(3): 552-562.
- [6] YANG F, YAN G, LI Y, et al. Astragalus polysaccharide attenuated iron overload-induced dysfunction of mesenchymal stem cells via suppressing mitochondrial ROS[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(4): 1369-1379.
- [7] GUAN F Y, YANG S J, LIU J, et al. Effect of astragaloside IV against rat myocardial cell apoptosis induced by oxidative stress via mitochondrial ATP-sensitive potassium channels[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 371-376.
- [8] 许永崧,韩晓凤,龚慕辛,等. 单向在体肠灌流在中药研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 211-218.
- [9] FAGERHOLM U, JOHANSSON M, LENNERNÄS H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum[J]. Pharmaceutical Research, 1996, 13(9): 1336-1342.
- [10] 邱一行,王平,王进荣,等. 大黄酸在大鼠体内的肠吸收研究[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(5): 31-34.
- [11] 缪舒益. 大黄游离蒽醌的肠吸收动力学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [12] 冯潜. 大黄素和大黄酸在肠道的吸收与代谢机理研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2012.

(编辑: 梁进权)