

巴戟甲素的大鼠在体肠吸收动力学

邓少东¹, 林靖然², 林励^{2*}, 肖凤霞², 张鹏²

(1. 广东医学院, 广东 东莞 523808; 2. 广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**考察巴戟甲素大鼠在体肠吸收的动力学特征。**方法:**采用大鼠在体单向灌注法,利用 HPLC-ELSD 测定巴戟甲素的含量,研究巴戟甲素在小肠段(十二指肠、空肠、回肠)和结肠的吸收情况,并考察药物质量浓度(43.92, 87.84, 175.68 mg·L⁻¹),灌注液 pH(5.4, 6.8, 7.4)和 P 糖蛋白(P-gp)抑制剂(0, 0.2, 0.5 mmol·L⁻¹)对巴戟甲素吸收的影响。**结果:**巴戟甲素为全肠道吸收的药物,吸收速率与灌注液 pH 和肠段部位有关,其吸收速率按十二指肠、空肠、回肠和结肠的顺序依次下降。在实验浓度范围内,十二指肠、空肠、回肠和结肠的吸收速率常数分别在 2.752~2.861, 1.435~1.574, 1.353~1.403, 1.144~1.301 h⁻¹。与原药组相比,含高浓度 P-gp 抑制剂药物组 P_{app} 显著增加($P < 0.05$)。**结论:**巴戟甲素在十二指肠、空肠、回肠和结肠的吸收以被动扩散方式为主,其吸收动力学符合一级过程。

[关键词] 巴戟甲素; 肠吸收; 单向灌注法; P 糖蛋白

[中图分类号] R945; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)04-0089-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015040089

In situ Intestinal Absorption Kinetics of Bajijiasu in Rats DENG Shao-dong¹, LIN Jing-ran², LIN Li^{2*}, XIAO Feng-xia², ZHANG Peng² (1. Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China; 2. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the *in situ* intestinal absorption kinetics of bajijiasu in rats. **Method:** The absorption of bajijiasu in the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) and colon of rats was investigated using an *in situ* single-pass perfusion method. The drug concentration was measured by HPLC-ELSD. The effects on intestinal absorption of different drug concentration (43.92, 87.84, 175.68 mg·L⁻¹), different pH in perfusate (5.4, 6.8, 7.4) and P-glycoprotein (P-gp) inhibitor (0, 0.2, 0.5 mmol·L⁻¹) were conducted. **Result:** *Bajijiasu* could be absorbed in the whole intestine, and its absorption rate was influenced by the pH of the perfusion solution and intestinal segments. The absorption rate in duodenum, jejunum, ileum and colon was 2.752-2.861, 1.435-1.574, 1.353-1.403, 1.144-1.301 h⁻¹, respectively, the rate declined in turn. P_{app} in the group containing the P-gp inhibitor increased markedly. **Conclusion:** The absorption of bajijiasu shows passive diffusion in the general intestinal segments with the first-order kinetic process.

[Key words] bajijiasu; intestinal absorption; single-pass intestinal perfusion; P-glycoprotein

口服给药是传统的给药方式,具有相对安全、方便的特点,易被患者接受,目前口服药物制剂的开发已成为药学界的研究重点。口服药物欲发挥全身作用,吸收是关键,所以对吸收过程的研究有助于药物的结构设计、处方筛选、工艺优化。小肠是吸收的主要场所,也是研究口服药物吸收机制的主要部位。

用于研究药物吸收的实验方法包括体内(药物浓度法等)、在体(在体灌注模型等)、离体(外翻肠环法等)及细胞模型法(Caco-2 细胞模型、HT29 细胞模型等)4 个类型。尽管肠吸收实验方法较多,但目前被广泛采用的方法主要有 4 种^[1]:药物浓度法、大鼠在体肠灌注法、大鼠外翻肠囊法以及 Caco-2 细胞模

[收稿日期] 20140617(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81403085);东莞市医疗卫生科技计划一般项目(2014105101295);广东医学院科研基金博士学位人员科研启动项目(B2013007)

[第一作者] 邓少东,博士,从事中药资源开发利用与新药研究,E-mail:donggdyxy@163.com

[通讯作者] *林励,研究员,博士生导师,从事中药资源开发利用与新药研究,Tel:020-39358270,E-mail:LL76611@126.com

型法。其中,在体肠灌注法具有使用简单、准确性较高、测得的指标更接近体内的真实吸收情况等优点而被广泛采用。

巴戟甲素是从中药巴戟天 *Morinda officinalis* 中分离,具有补肾益脑、抗衰老、抗老年痴呆以及神经细胞保护作用等^[2-6]活性的低聚糖成分。目前在国内外关于糖类成分在体内的吸收代谢研究报道较少,主要原因在于糖类成分在体内检测较困难或易于吸收代谢转化为其他物质,也是糖类成分开发成新药的关键问题。因此,本课题组在前期研究中^[7],已建立了巴戟甲素在生物样品中的检测方法,同时采用大鼠外翻肠囊法考察了巴戟甲素在大鼠小肠(十二指肠、空肠、回肠)的吸收差异。然而,外翻肠囊法对试验操作、环境等要求较高,主要反映药物在体外的吸收情况,目前在海外使用的较少。因此,本研究采用在体肠单向灌注法研究巴戟甲素在大鼠小肠和结肠中的吸收转运机制,以期为其口服制剂的研究和开发提供科学依据,并为其药代动力学和药效学的进一步研究奠定基础。

1 材料

1.1 试药 巴戟甲素(按专利 201010224513.2 方法自制,纯度 >98%),盐酸维拉帕米(中国食品药品检定研究院,批号 100223-200102),乙腈、甲醇、乙醇(色谱纯,德国 Merck 公司),空白灌流液(Krebs-Ringer's 营养液,自配,每升含 NaCl 7.8 g, KCl 0.35 g, CaCl₂ 0.12 g, MgCl₂ 0.02 g, NaH₂PO₄ 0.32 g, NaHCO₃ 1.37 g,用 NaOH 或 H₃PO₄ 调节 pH),氨基乙酸乙酯、三乙胺等试剂均为国产分析纯;水为自制超纯水。

1.2 仪器 2695 型液相系统(配备 2424 型蒸发光散射检测器,美国 Waters),BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),Genpure 型超纯水系统(德国 TKA 公司),HH-S6 型数显恒温水浴锅(常州普天仪器公司),BT100-1F 型数显恒流泵(保定兰格恒流泵有限公司),PHB-3 型 pH 计(上海三信仪表厂),KQ-500 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),佳美 SK-1 型快速混匀器(江苏金坛市佳美仪器厂),TGL-16aR 型台式冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.3 动物 雄性 SD 大鼠,体重 200 ~ 250 g,由广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2008-0020,试验前动物禁食 12 h,自由饮水。

2 方法

2.1 色谱条件 Waters XBridge™ Amide 色谱柱

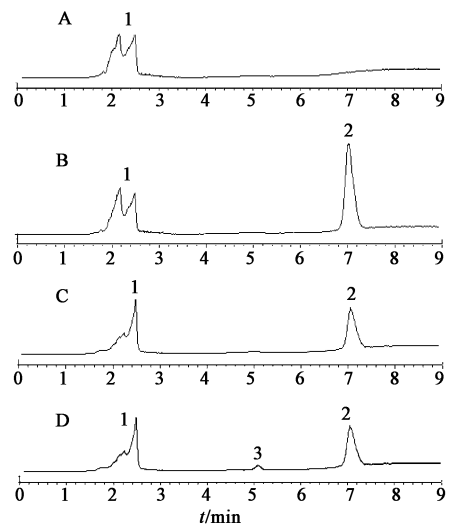
(4.6 mm × 150 mm, 3.5 μm),柱温 40 °C,以乙腈为流动相 A,0.2% 三乙胺溶液为流动相 B,梯度洗脱 0 ~ 2 min(60% ~ 50% A),2 ~ 3 min(50% ~ 10% A),3 ~ 9 min(10% ~ 10% A),流速 0.8 mL·min⁻¹,漂移管温度 90 °C;喷雾器模式:100% 加热,气压 40 Psi,增益 20 倍,进样体积 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取巴戟甲素 21.96 mg,置于 10 mL 量瓶中,以 10% 乙醇溶液定容至刻度,摇匀,制得 2.196 g·L⁻¹的对照品储备液,备用。

2.3 样品处理 取样品液 2 mL,置于离心机中于 10 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 水系微孔滤膜,取续滤液 10 μL 直接进样。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 分别取空白灌流液、含巴戟甲素的灌流液、经灌流后含巴戟甲素的样品液及含维拉帕米的灌流样品液,按 2.3 项下处理,进样分析。见图 1。



1. 缓冲盐;2. 巴戟甲素;3. 维拉帕米;A. 空白灌流液;B. 含巴戟甲素的灌流液;C. 灌流后样品液;D. 含维拉帕米的灌流样品液

图 1 在体肠单向灌注巴戟甲素专属性试验 HPLC-ELSD

Fig. 1 Specificity test of bajiijiasu *in situ* intestinal perfusate by HPLC-ELSD

2.4.2 标准曲线制备 分别取 2.2 项下对照品储备液 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 mL 置于 5 mL 量瓶中,以空白灌流液定容至刻度,摇匀后,按 2.3 项下处理,进样 10 μL。以巴戟甲素进样质量 X (ng) 的对数值 (lgX) 为横坐标,以其峰面积积分值 Y 的对数值 (lgY) 为纵坐标绘制标准曲线,求得回归方程,得标准曲线方程为 lgY = 1.173 6 lgX + 1.483 8, r = 0.999 8,进样量线性范围 0.439 2 ~ 14.054 4 μg。

2.4.3 精密度 在空白灌流液中加入巴戟甲素,分别配制成 43.92, 87.84, 175.68 mg·L⁻¹ 的溶液,按

2.3 项下处理,平行制备 5 份,于同一天内测定 5 次和 5 d 内分别测定,计算日内和日间精密度,用 RSD 表示。低、中、高 3 个质量浓度的日内精密度分别为 0.8%, 2.4%, 1.1%, 日间精密度分别为 1.5%, 2.6%, 1.9%。

2.4.4 样品稳定性 分别取各肠段在同一时间段灌流后的样品,按 2.3 项下方法处理,分别在 0, 3, 6, 12, 24 h 进样 10 μL , 计算得空肠、回肠、十二指肠、结肠所制得样品中巴戟甲素峰面积 RSD 分别为 1.5%, 1.7%, 2.0%, 2.2%。

2.4.5 方法回收率 在空白灌流液中加入巴戟甲素,分别配制成 43.92, 87.84, 175.68 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,按 2.3 项下处理,每个质量浓度平行制备 3 份,测定,计算得方法回收率在 97.27% ~ 102.72%, 平均回收率为 99.7% (RSD 2.2%)。

2.4.6 定量限与检测限 上述色谱条件下,在 $S/N \geq 10$ 时测得巴戟甲素的定量限质量浓度为 32.94 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 在 $S/N \geq 3$ 时测得巴戟甲素的检测限质量浓度为 5.44 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4.7 物理吸附的考察 分别取肠段和灌流管置于含巴戟甲素 87.84 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的灌流液中 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴孵育 30 min, 孵育前后的供试品溶液,按 2.3 项下操作,以后者对前者的巴戟甲素峰面积比值计算绝对回收率为 (95.80 \pm 0.94)% 和 (97.30 \pm 1.87)% ($n=3$), 结果表明大鼠肠壁和灌流管对巴戟甲素基本无物理吸附。

2.5 大鼠在体肠灌流试验

2.5.1 方法 取生理盐水、巴戟甲素灌流液、供试液和收集液小瓶置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴,将禁食过夜的大鼠(自由饮水),腹腔注射 20% 乌拉坦溶液(200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 麻醉。背位固定,沿腹中线打开腹腔,选取实验所需的各个肠段,取约 10 ~ 15 cm 于两端切口,插管并结扎,用预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 的生理盐水缓慢地将肠内容物冲洗干净,然后用生理盐水冲洗 30 min,将伤口用浸有生理盐水的脱脂棉覆盖保湿,红外灯下保温。取一定质量浓度的巴戟甲素灌流液(预热 37 $^{\circ}\text{C}$) 100 mL,先以 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速灌流 10 min,再将流速调为约 0.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,开始计时,每隔 15 min 迅速更换 1 次已知质量的供试液小瓶和收集液小瓶,直至 120 min,称质量,计算灌入和收集的供试液质量。试验结束后,剪下被考察肠段,测量其长度(L)和横截面半径(r)。

大鼠各个肠段的选择:十二指肠段自幽门 1 cm 处开始向下取 10 cm,空肠段距幽门 15 cm 处开始向

下取 10 cm,回肠段自盲肠上行 20 cm 处开始向下取 10 cm,结肠段从盲肠后段开始向下取 10 cm。

2.5.2 灌流液体积的校正及数据处理 小肠不仅吸收药物,也吸收和分泌水分,导致灌流液体积变化,因此不能用直接测定药物浓度的方法计算药物的吸收。本试验采用质量法对灌流液的流入和流出的体积进行校正,消除其体积变化的影响。具体步骤为,精密量取供试液 0.50 mL 放入已经称重的干净玻璃瓶中,称量液体的质量,算出其密度 ρ_{in} 。从接收液样品中精密量取 0.50 mL,放入已经称重的干净玻璃瓶中,称量液体的质量,计算出接收液的平均密度 ρ_{out} 。 $V_{in} = M_{in}/\rho_{in}$; $V_{out} = M_{out}/\rho_{out}$; 式中 M_{in} , M_{out} 分别为一定时间内进出肠道灌流液的质量。按下面的公式计算药物吸收速率常数(K_a)和药物表观渗透系数(P_{app}), 式中 V_{in} 和 V_{out} 分别为灌入和收集的供试液体积; C_{in} 和 C_{out} 分别为进口和出口处缓冲液中的药物质量浓度; L 和 r 分别为被考察肠段长度和半径; Q_{in} 为灌流速度; t 为灌流时间; 由灌流前后剩余药量差值求出每小时单位面积肠壁上的巴戟甲素累积吸收量(A); K_a , P_{app} 和 A 为 8 个时间段(0 ~ 120 min)样品的平均值。

$$P_{app} = \frac{-Q_{in} \ln\left(\frac{C_{out}}{C_{in}} \times \frac{V_{out}}{V_{in}}\right)}{2\pi r L} \quad \text{公式(1)}$$

$$K_a = \left(1 - \frac{C_{out}}{C_{in}} \times \frac{V_{out}}{V_{in}}\right) \times \frac{Q_{in}}{\pi r^2 L} \quad \text{公式(2)}$$

$$A = \frac{C_{in} \times V_{in} - C_{out} \times V_{out}}{2\pi r L t} \quad \text{公式(3)}$$

2.6 统计学处理 测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

3 结果

3.1 灌流液 pH 对巴戟甲素在体肠吸收的影响 分别用 pH 5.4, 6.8 和 7.4 的 Krebs-Ringer's 灌流液(巴戟甲素质量浓度为 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 对全肠段灌流,考察 pH 对巴戟甲素在全肠段吸收的影响。巴戟甲素在 pH 5.4, 6.8 和 7.4 灌流液中的 K_a 和 P_{app} , 见表 1。

表 1 巴戟甲素在不同 pH 灌流液中的吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 1 Effects of perfusate's pH on K_a and P_{app} of bajijiasu in rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

pH	K_a/h^{-1}	$P_{app}/\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$
5.4	1.386 \pm 0.079 ¹⁾	0.168 \pm 0.012 ¹⁾
6.8	1.420 \pm 0.123 ¹⁾	0.221 \pm 0.031 ¹⁾
7.4	1.968 \pm 0.115	0.387 \pm 0.024

注:与 pH 7.4 组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

经方差分析,巴戟甲素在 pH 7.4 灌流液中的 K_a, P_{app} 均与 pH 6.8, 5.4 有显著性差异 ($P < 0.05$), pH 6.8 和 pH 5.4 间无显著性差异。实验结果显示,巴戟甲素在 pH 7.4 的灌流液中的 P_{app} 和 K_a 均大于 pH 6.8 和 pH 5.0。说明巴戟甲素在酸性环境下肠吸收相对较弱,可能是由于巴戟甲素在酸性条件下会发生水解而导致的。因此,本试验的灌流液

选择 pH 7.4。

3.2 巴戟甲素的浓度对各肠段吸收的影响 分别用巴戟甲素质量浓度为 43.92, 87.84, 175.68 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 *Kreb-Ringer's* 灌流液 (pH 7.4) 对十二指肠、空肠、回肠和结肠灌流,考察不同浓度巴戟甲素对各肠段吸收的影响。灌流液在各肠段的 K_a, P_{app} 及 A 的结果,见表 2。

表 2 不同药物浓度下在各肠段的吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Absorption parameters of different concentrations of *bajijiasu* at intestinal segments in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

肠段	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	K_a/h^{-1}	$P_{app}/\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$	$A/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$
十二指肠	43.92	2.752 ± 0.172	0.508 ± 0.024	14.12 ± 1.59
	87.84	2.861 ± 0.218	0.512 ± 0.038	20.46 ± 1.21
	175.68	2.934 ± 0.192	0.541 ± 0.042	25.13 ± 2.14
空肠	43.92	$1.574 \pm 0.103^{1)}$	0.352 ± 0.008	9.13 ± 0.84
	87.84	$1.486 \pm 0.120^{1)}$	0.333 ± 0.015	11.63 ± 0.96
	175.68	$1.435 \pm 0.112^{1)}$	0.395 ± 0.017	18.19 ± 1.34
回肠	43.92	$1.403 \pm 0.114^{1)}$	0.281 ± 0.022	6.48 ± 0.55
	87.84	$1.353 \pm 0.106^{1)}$	0.214 ± 0.010	11.03 ± 0.97
	175.68	$1.397 \pm 0.125^{1)}$	0.262 ± 0.012	16.67 ± 1.56
结肠	43.92	$1.301 \pm 0.071^{1)}$	0.222 ± 0.013	6.27 ± 0.49
	87.84	$1.232 \pm 0.094^{1)}$	0.214 ± 0.008	9.32 ± 0.85
	175.68	$1.144 \pm 0.093^{1)}$	0.195 ± 0.006	15.07 ± 1.46

注:与十二指肠同浓度组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

经方差分析,43.92, 87.84, 175.68 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的巴戟甲素肠液灌流时,十二指肠的 K_a 与空肠、回肠和结肠有显著性差异 ($P < 0.05$), 而空肠与回肠、结肠之间也存在显著性差异 ($P < 0.05$), 回肠与结肠之间无显著性差异。3 个质量浓度中,十二指肠的 P_{app} , 药物累积吸收量明显大于空肠、回肠和结肠。结果表明巴戟甲素为全肠道吸收的药物,各肠段存在吸收差异,其吸收速率按十二指肠、空肠、回肠和结肠的顺序依次下降。

十二指肠、空肠、回肠和结肠的 3 个质量浓度间的 K_a 均无显著性差异。十二指肠、空肠、回肠和结肠的药物累积吸收量随灌流液药物浓度的增加而近似线性地增加,但吸收速率常数基本不变,说明药物不存在自身浓度抑制现象,表明巴戟甲素在十二指肠、空肠、回肠和结肠的吸收以被动扩散方式为主,其吸收动力学符合一级过程,见表 2。

3.3 P-gp 抑制剂对巴戟甲素肠吸收的影响 以盐酸维拉帕米作为 P-gp 抑制剂,分别在 pH 7.4 的 *Kreb-Ringer's* 灌流液 (巴戟甲素 175.68 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 中加入盐酸维拉帕米至 0, 0.2, 0.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为 3 组供试液。试验前分别用 3 组供试液以 2.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速快速平衡孵育肠段和灌流管 10 min,其他操作同 2.5.1 项。对十二指肠灌流,

考察 P-gp 抑制剂对巴戟甲素吸收的影响。十二指肠经不同浓度盐酸维拉帕米药物组灌流的 K_a, P_{app} 结果,见表 3。

表 3 不同浓度 P-gp 抑制剂下巴戟甲素的吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of P-glycoprotein inhibitor on K_a and P_{app} of *bajijiasu* in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

盐酸维拉帕米 / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	K_a/h^{-1}	$P_{app}/\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$
0	2.931 ± 0.214	0.543 ± 0.051
0.2	2.992 ± 0.182	0.564 ± 0.024
0.5	$3.274 \pm 0.147^{1)}$	$0.683 \pm 0.038^{1)}$

注:与原药组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

经方差分析,含 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抑制剂药物组的 K_a, P_{app} 与原药组均无显著性差异,含 0.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抑制剂药物组的 K_a, P_{app} 与原药组均有显著性差异 ($P < 0.05$)。

4 讨论

肠吸收评价模型广泛应用于各种制剂处方设计和药物临床研究中,目前用于评价药物在肠道的吸收情况的方法主要有“在体循环法”^[8-9] 和“单向灌流法”^[10-11], 在国外研究中多采用单向灌流法。与在体循环法相比,单向灌流法的实验条件与给药后药物接触肠道的环境较为接近,避免了在体循环法由于较高的灌流速度导致的肠黏膜损伤而引起的测

定误差。传统的方法是用不吸收的标记物如酚红或¹⁴C-PEG 标记灌流液,以此来标示灌流液体积的变化,然而酚红本身能部分被吸收,并且对某些化合物的肠道转运或分析测定有干扰,而¹⁴C-PEG 存在放射性和安全性问题,因此本文实验中引入质量法计算药物 K_a 和 P_{app} ,与传统加入水分“标示物”的方法相比,由于只需检测灌流液中药物的浓度,不涉及“标示物”的浓度测定,更简便、更安全,大大降低了检测的工作量,并且与传统酚红法相比,质量法更能反映肠吸收水分的实际情况^[12]。

本试验在前期研究的基础上^[7,13-14],选择 3 个不同质量浓度(43.92,87.84,175.68 mg·L⁻¹)研究巴戟甲素的在体肠单向灌流吸收动力学。在口服给药中,本实验所选择的药物浓度在试验动物体内均可以达到,并在安全使用剂量范围内。

根据 P_{app} 可将吸收性能分为 3 类: $P_{app} < 0.03 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$,吸收差; $P_{app} > 0.2 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,吸收完全;介于两者之间的为中等吸收^[15]。根据此标准,可以判断药物在大鼠肠段的吸收情况。从以上实验结果可知,巴戟甲素在本实验条件下各个肠段 P_{app} 均 $> 0.2 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$,说明其在整个肠段吸收良好,推测其属于高渗透性药物,同时与其他肠段相比,十二指肠的吸收速率常数最高,表明巴戟甲素在此肠段具有较好的吸收。因此,本试验结果将为巴戟甲素设计成口服缓控释制剂提供了生物学依据。

P-gp 是肠上皮细胞上的主要转运蛋白,在药物体内动态中起重要作用。P-gp 是 ATP 结合盒转运蛋白超家族成员之一,可将底物药物从肠上皮细胞主动外排回肠腔,减少药物吸收,其具有广泛的底物、抑制剂和诱导剂的专属性,转运蛋白抑制剂与其底物合用时会引起转运蛋白分子水平上的竞争性或非竞争性相互作用。本试验结果显示,巴戟甲素的 K_a 及 P_{app} 均随 P-gp 抑制剂浓度的增加而有所增加,其中加入 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ P-gp 抑制剂后与原药组相比较有显著性差异($P < 0.05$),与其肠吸收符合一级动力学过程并不相符,可能是由于加入维拉帕米($0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)的剂量过高,超出了实验动物口服吸收动力学研究的实际情况而导致的。针对此结果,课题组在后期的研究中将增加 P-gp 抑制剂浓度组进行考察,确定巴戟甲素是否 P 糖蛋白的底物,并探讨促进巴戟甲素吸收转运的口服材料,为其制剂的开发提供依据。

[参考文献]

[1] 谭晓斌,贾晓斌,陈彦,等. 在体肠灌流模型及其在中

药研究中的应用[J]. 中成药,2007,29(11):1665-1668.

[2] 龚梦鹃,叶文华,谢媛媛,等. 巴戟天补肾阳作用的血清代谢组学研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(11):1682-1685.

[3] 陈洁文,王勇,谭宝璇,等. 巴戟素补肾健脑作用的神经活动基础[J]. 广州中医药大学学报,1999,16(4):314-317.

[4] 谭宝璇,陈朝凤,陈洁文,等. 巴戟素补肾抗衰老的作用机制研究[J]. 新中医,2000,32(11):36-38.

[5] 梁宏宇,吴伟,陈宏圭. 巴戟素治疗血管性痴呆改善语言功能的初步探索[J]. 现代康复,2001,5(11):29-30.

[6] Chen D L, Zhang P, Lin L, et al. Protective effect of bajijiasu against β -amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells [J]. Cell Mol Neurobiol, 2013, 33(6):837-850.

[7] 肖凤霞,邓少东,林励,等. 基于翻转肠囊法的巴戟甲素吸收机制的实验研究[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(6):621-624.

[8] 李季,李凌军,娄华伟. 天钩降压胶囊中钩藤碱、异钩藤碱大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):167-170.

[9] 张玉玲,陈健龙,王虑虎,等. 小檗碱的油水分系数及其在体肠循环灌流模型中的肠吸收特性[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(16):1-4.

[10] Stewart B H, Chan O H, Lu R H, et al. Comparison of intestinal permeabilities determined in multiple *in vitro* and *in situ* models: relationship to absorption in humans [J]. Pharm Res,1995,12(5):693-699.

[11] 王进荣,王平,杨永茂,等. 单向灌流法评价芦荟大黄素大鼠体内肠吸收的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(17):2393-2398.

[12] 聂淑芳,潘卫三,杨星钢,等. 对大鼠在体肠单向灌流技术中质量法的评价[J]. 中国新药杂志,2005,14(10):1176-1179.

[13] 陈永刚,林励,吴金虎,等. 巴戟甲素在模拟人体胃肠环境中稳定性试验[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(4):465-467.

[14] Chen D L, Zhang P, Lin L, et al. Protective effects of bajijiasu in a rat model of β 25-35-induced neurotoxicity [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 154(1):206-217.

[15] Fagerholm U, Johansson M, Lennernas H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum [J]. Pharm Res,1996,13(9):1336-1342.

[责任编辑 邹晓翠]