

虎杖提取物中虎杖苷及白藜芦醇在大鼠胃肠道吸收的动力学分析

欧水平¹, 任丽¹, 王玉和¹, 王森^{2*}, 陈灵^{1*}

(1. 遵义医学院附属医院药剂科, 贵州遵义 563000; 2. 遵义医学院药学院, 贵州遵义 563000)

[摘要] **目的:**研究虎杖提取物在大鼠胃及小肠中的吸收特性。**方法:**采用大鼠在体单向肠灌注法,以虎杖苷和白藜芦醇含量作为评价指标,采用HPLC测定灌注高、中、低剂量虎杖提取物后指标成分的含量变化,研究二者在胃、小肠中的吸收动力学。**结果:**虎杖提取物在胃内吸收量与药物浓度成正比,经SPSS 17.0软件分析,低剂量组虎杖提取物中虎杖苷的吸收速率与中、高剂量组比较具有显著性差异($P < 0.05$),中剂量组与高剂量组比较则无显著性差异;不同组别之间白藜芦醇吸收速率分析结果为 $F = 609.724, P < 0.05$ 。当虎杖提取物给药剂量为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,虎杖苷和白藜芦醇在大鼠肠道的吸收速率常数(K_a)分别为 $0.925, 0.575 \text{ h}^{-1}$;不同剂量组中虎杖苷和白藜芦醇的 K_a 及吸收率均无显著性差异。**结论:**虎杖提取物中虎杖苷在胃内吸收具有浓度饱和现象,可能是主动吸收或易化扩散机制;而白藜芦醇在胃内的吸收率随着提取物浓度的增加而增大,提示其吸收机制可能是被动转运;不同质量浓度虎杖提取物对虎杖苷和白藜芦醇的肠吸收没有影响,吸收无浓度饱和现象,提示其在肠道内的吸收可能是被动扩散机制。

[关键词] 吸收动力学; 虎杖苷; 白藜芦醇; 虎杖; 提取物; 在体肠灌注模型; 酚红

[中图分类号] R283.6;R945;R285.5;R969.1;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0030-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018030030

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171115.1446.006.html>

[网络出版时间] 2017-11-15 14:46

Gastrointestinal Absorption Kinetics of Polydatin and Resveratrol from *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* Extract in Rats

OU Shui-ping¹, REN Li¹, WANG Yu-he¹, WANG Sen^{2*}, CHEN Ling^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China;

2. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the absorption characteristics of polydatin and resveratrol from *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract in the stomach and small intestine of rats. **Method:** *In situ* single pass intestinal perfusion model in rats was adopted, taking contents of polydatin and resveratrol as indexes, HPLC was employed to determine contents of polydatin and resveratrol before and after being perfused *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract for investigating their absorption characteristics in the stomach and small intestine of rats. **Result:** The absorption rate of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract was proportional to drug concentration in the stomach. Absorption rate of polydatin in *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract with low dose showed significant difference ($P < 0.05$) when compared with the middle and high dose groups, but there was no

[收稿日期] 20170719(014)

[基金项目] 贵州省科技合作计划项目(黔科合LH字[2015]7548号,[2015]7481号);遵义市科技计划课题(遵市科合社字[2014]96号)

[第一作者] 欧水平,博士,副主任药师,从事中药新药开发研究,Tel:0851-28609198,E-mail:oushuiping1208@126.com

[通信作者] *王森,博士,硕士生导师,从事新药开发研究,Tel:0851-28608352,E-mail:wangsen912912@126.com;

*陈灵,主任药师,硕士生导师,从事药剂学研究,Tel:0851-28608597,E-mail:1551062041@qq.com

significant difference between the middle dose group and the high dose group. The absorption rates of resveratrol at different dose groups indicated significant deviation by SPSS 17.0 ($F = 609.724$, $P < 0.05$). When the dose of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract was $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the absorption rate constants (K_a) of polydatin and resveratrol were 0.925, 0.575 h^{-1} , respectively. The K_a and absorption rates of polydatin and resveratrol in different dose groups were not significantly different. **Conclusion:** Polydatin in *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract has a concentration saturation phenomenon in the stomach, its mechanism may be an active absorption or facilitated diffusion; while the absorption rate of resveratrol in the stomach increased with the increase of extract concentration, this suggests that the resveratrol might be absorbed in the stomach *via* passive transport mechanism. Different concentrations of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract had no effect on the intestinal absorption of polydatin and resveratrol, and absorption is not saturated, this suggests that polydatin and resveratrol may be absorbed in intestine *via* passive diffusion mechanism.

[Key words] absorption kinetics; polydatin; resveratrol; *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix*; extract; *in situ* intestinal perfusion model; phenol red

虎杖具有祛风利湿、活血化瘀、清热解毒等功效,主要用于治疗关节炎痹痛、湿热黄疸、咳嗽等^[1-2]。二苯乙烯类及蒽醌类是虎杖的主要有效部位,其中二苯乙烯类成分主要有虎杖苷、白藜芦醇等,蒽醌类化合物主要有大黄素、大黄素甲醚等^[3-5]。本课题组前期制备得到了虎杖苷、白藜芦醇、大黄素和大黄素甲醚 4 种有效成分总质量分数 62.23% 的虎杖提取物,且虎杖提取物口服治疗大鼠痛风性关节炎疗效确切^[1],但其体内胃肠道吸收动力学尚未见文献报道。本实验选用大鼠在体单向肠灌流方法,建立了虎杖提取物的在体肠吸收模型,以虎杖苷和白藜芦醇含量作为评价指标(大黄素在胃肠道条件下不稳定,易分解,故无法对大黄素胃肠吸收动力学行为进行追踪),研究其在大鼠胃及小肠的吸收特性,为虎杖提取物新制剂的剂型设计及临床合理应用提供参考。

1 材料

HL-2 型恒流泵(上海泸西分析仪器厂有限公司),1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),ME204E 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],TGL-16C 型离心机(上海安亭科学仪器厂),Exceed-Cd-20 型超纯水机(成都艾柯水处理设备有限公司)。

虎杖饮片(重庆慧远药业有限公司,批号 150401,经遵义医学院药学院生药学教研室杨建文教授鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* 的根及根茎),苯酚红(国药集团化学试剂有限公司,批号 080329),虎杖苷、白藜芦醇对照品(成都普瑞法科技开发公司,批号分别为 5070306,15030110,纯度均 > 98%),Krebs-Ringer's 营养液(K-R 试液,

pH 7.4,自制,每 1 L 含 NaCl 7.80 g, KCl 0.35 g, NaHCO₃ 1.37 g, NaH₂PO₄ 0.32 g, MgCl₂ 0.02 g 和葡萄糖 1.40 g),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

清洁级雄性 SD 大鼠 36 只,体重(200 ± 20) g,由重庆第三军医大学大坪医院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(渝)2012-0005。经遵义医学院动物实验伦理委员会批准,批准号伦审(2016)2-083 号。

2 方法与结果

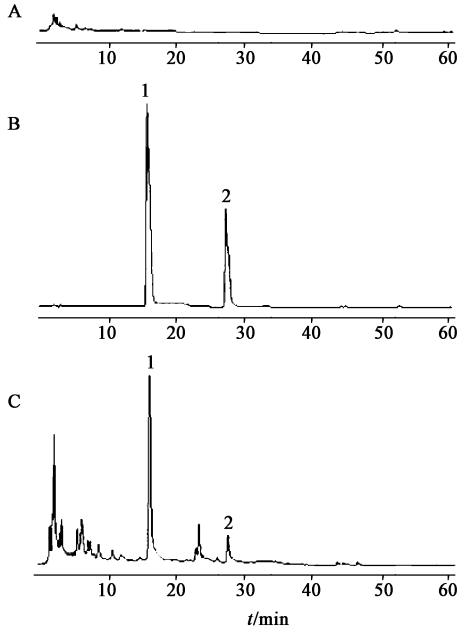
2.1 虎杖提取物的制备^[1] 称取虎杖饮片 2 kg,粉碎过 60 目筛,加 6 倍量 95% 乙醇于 80 °C 回流提取 2 次,每次 2 h,合并滤液,减压浓缩至无乙醇味,用乙酸乙酯萃取,合并乙酸乙酯萃取液,浓缩干燥,得提取物 A;将剩下的水层浓缩,加 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸 200 mL 回流 1 h,加水静置过夜,有沉淀析出,抽滤干燥,得红褐色粉末,在索氏提取器中用乙醚提取至无色,用 5% 氢氧化钠溶液萃取乙醚层,合并萃取液,用 $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸调 pH < 4,抽滤,干燥,得到提取物 B;将提取物 A 和提取物 B 混合,即得虎杖提取物。计算虎杖提取物得率 9.58%,主要有效成分虎杖苷、白藜芦醇、大黄素和大黄素甲醚的质量分数总和 62.23%,其中虎杖苷、白藜芦醇质量分数分别为 17.21%, 7.64%。

2.2 色谱条件 Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 15 min, 15% ~ 20% A; 15 ~ 25 min, 20% ~ 30% A; 25 ~ 40 min, 30% ~ 50% A; 40 ~ 41 min, 50% ~ 70% A; 41 ~ 51 min, 70% ~ 80% A; 51 ~ 60 min, 80% A),流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波

长 286 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。

2.3 胃吸收方法学考察

2.3.1 专属性考察 取空白胃液、混合对照品溶液、胃吸收样品溶液进行 HPLC 分析,记录色谱图,见图 1。结果显示空白胃液循环液对虎杖苷和白藜芦醇出峰无干扰,且胃吸收样品溶液主要色谱峰的保留时间与对照品溶液一致。



A. 空白胃液; B. 对照品; C. 供试品; 1. 虎杖苷; 2. 白藜芦醇

图 1 虎杖提取物胃吸收专属性考察的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of polydatin and resveratrol from *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract in stomach

2.3.2 标准曲线的制备 称取虎杖苷对照品 4.0 mg 和白藜芦醇对照品 1.0 mg,用人工胃液定容于同一 10 mL 棕色量瓶中,得混合对照品溶液。取该混合对照品溶液适量,用人工胃液稀释得虎杖苷质量浓度分别为 4, 40, 80, 100, 240, 320 mg·L⁻¹ 的溶液,得白藜芦醇质量浓度为 1, 10, 20, 40, 60, 80 mg·L⁻¹ 的溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得虎杖苷、白藜芦醇标准曲线分别为 $Y = 20.577X + 8.640$ ($r = 0.9999$), $Y = 38.282X - 1.599$ ($r = 0.9999$),线性范围依次为 4~320, 1~80 mg·L⁻¹。

2.3.3 精密度考察 取低、中、高质量浓度的虎杖苷(质量浓度 40, 160, 320 mg·L⁻¹),白藜芦醇(质量浓度 10, 40, 80 mg·L⁻¹)混合对照品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,1 d 内连续测定 6 次,计算日内精密度,连续测定 6 d,计算日间精密度。结果虎杖苷和白藜芦醇低、中、高质量浓度的日内和日间精密度

的 RSD 均 < 2.0%,表明仪器精密度高。

2.3.4 稳定性考察 以人工胃液配制低、中、高质量浓度的虎杖苷、白藜芦醇混合对照品溶液,置于 37 ℃ 水浴中孵育,分别于 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 h 取样,按 2.2 项下色谱条件测定,结果低、中、高质量浓度虎杖苷和白藜芦醇的峰面积 RSD 均 < 2.0%,表明在 37 ℃ 水浴中放置 3 h 后人工胃液中虎杖苷和白藜芦醇均较稳定。

2.3.5 回收率考察 以人工胃液配制低、中、高质量浓度的虎杖苷、白藜芦醇混合对照品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,记录峰面积,分别代入相应标准曲线计算指标成分的质量浓度及回收率,见表 1。结果表明低、中、高质量浓度对照品溶液的回收率均符合标准,且 RSD 较小,表明该方法回收率较好。

表 1 虎杖苷及白藜芦醇胃吸收回收率的考察

Table 1 Recovery test of polydatin and resveratrol in stomach

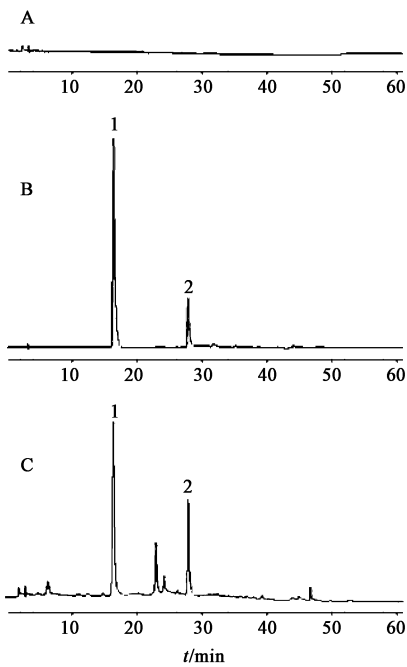
成分	质量浓度 /mg·L ⁻¹	回收率($\bar{x} \pm s, n=3$) /%	RSD /%
虎杖苷	40	99.10 ± 0.014	1.4
	160	99.32 ± 0.009	0.9
	320	101.47 ± 0.014	1.4
白藜芦醇	10	99.37 ± 0.011	1.2
	40	99.70 ± 0.010	1.0
	80	101.06 ± 0.014	1.4

2.4 肠吸收方法学考察

2.4.1 专属性考察 取空白肠循环液、混合对照品溶液和肠循环液样品按 2.2 项下色谱条件进样分析,记录色谱图,见图 2。结果发现空白肠循环液对虎杖苷和白藜芦醇的出峰无干扰,且与对照品出峰的保留时间一致。

2.4.2 酚红标准曲线的制备 称取酚红 3.0 mg,用 K-R 试液溶解并定容于 100 mL 量瓶中,分别吸取该溶液适量置于量瓶中,用 K-R 试液稀释成酚红质量浓度分别为 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg·L⁻¹ 的系列溶液。分别吸取各质量浓度的酚红溶液进样分析,检测波长 430 nm,其他条件同 2.2 项,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得酚红标准曲线 $Y = 21.505X - 11.08$ ($r = 0.9999$),线性范围处于 5~30 mg·L⁻¹。

2.4.3 标准曲线的制备 称取虎杖苷对照品 2 mg 和白藜芦醇对照品 0.2 mg,用 K-R 试液溶解并定容于同一 10 mL 棕色量瓶中,分别量取适量以上混合对照品溶液,用 K-R 试液稀释成虎杖苷质量浓度分



A. 空白肠液; B. 对照品; C. 供试品; 1. 虎杖苷; 2. 白藜芦醇

图 2 虎杖提取物肠吸收专属性考察的 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of polydatin and resveratrol from *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* extract in intestine

别为 5, 10, 50, 100, 150, 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和白藜芦醇质量浓度分别为 0.5, 1, 5, 10, 15, 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列混合对照品溶液, 按 2.2 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得虎杖苷标准曲线为 $Y = 20.606X + 2.5332$ ($r = 0.9999$), 线性范围为 5 ~ 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 白藜芦醇标准曲线为 $Y = 51.779X - 24.155$ ($r = 0.9993$), 线性范围 0.5 ~ 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4.4 精密度考察 取用 K-R 试液配制的虎杖苷质量浓度分别为 10, 50, 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 白藜芦醇质量浓度分别为 1, 5, 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (低、中、高浓度) 的混合对照品溶液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 按 2.2 项下色谱条件测定, 以 1 d 内连续测定 6 次, 计算日内精密度, 连续测定 6 d, 计算日间精密度, 结果虎杖苷和白藜芦醇低、中、高质量浓度日内精密度和日间精密度的 RSD 均 < 1.5%, 说明仪器精密度良好。

2.4.5 稳定性考察 以空白肠循环液配制低、中、高质量浓度的虎杖苷、白藜芦醇混合对照品溶液和酚红溶液, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育, 分别于 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 h 取样, 按 2.2 项下色谱条件测定, 结果低、中、高质量浓度的溶液中虎杖苷、白藜芦醇和酚红峰面积的 RSD 均 < 2%, 表明在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 3 h, 样品中虎杖苷、白藜芦醇和酚红基本稳定。

2.4.6 回收率考察 以空白肠循环液配制低、中、

高质量浓度的虎杖苷、白藜芦醇混合对照品溶液, 按 2.2 项下色谱条件测定, 记录峰面积, 分别代入相应标准曲线计算质量浓度及回收率, 见表 2。结果发现虎杖苷和白藜芦醇低、中、高 3 个质量浓度的回收率均符合标准, RSD 均较小。

表 2 虎杖苷及白藜芦醇肠吸收回收率的考察

Table 2 Recovery test of polydatin and resveratrol in intestine

指标成分	质量浓度 $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率 ($\bar{x} \pm s, n=3$) $/\%$	RSD $/\%$
虎杖苷	10	99.03 \pm 0.019	1.9
	50	99.37 \pm 0.012	1.2
	100	99.04 \pm 0.016	1.7
白藜芦醇	1	100.85 \pm 0.012	1.2
	5	99.50 \pm 0.012	1.2
	10	99.69 \pm 0.016	1.6

2.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组样本均数先进行方差齐性检验, 再进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2.6 大鼠在体胃吸收试验^[6-7] 雄性 SD 大鼠 18 只, 实验前禁食 24 h (自由饮水), 随机分为低、中、高 (1, 2, 4 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 个剂量组, 按剂量 350 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 用 7% 水合氯醛腹腔注射麻醉后固定, 切开腹部约 2.5 cm, 使胃暴露, 于贲门部和幽门部各切一小口, 分别插入塑料管并结扎, 用 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水将胃腔冲洗干净, 并吸干胃内溶液, 取出幽门处塑料管并结扎, 量取虎杖提取物胃受试液 2.0 mL 注入到胃内, 结扎贲门部后将胃放回大鼠腹腔, 并用日光灯保持大鼠体温约 37 $^{\circ}\text{C}$, 胃受试液的药物浓度记为初始质量浓度 (C_0), 2 h 后取出胃, 将胃内受试液转移至 10 mL 量瓶中, 少量多次地用人工胃液冲洗胃内部, 洗液一并转入上述 10 mL 量瓶中, 并用人工胃液定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 此量瓶中药物浓度记为终末质量浓度 ($C_{末}$)。按吸收速率 = $(C_0 \times V_0 - C_{末} \times V_{末}) / t$ 计算吸收速率, 式中 V_0 和 $V_{末}$ 分别为初始体积和终末体积, 见表 3。

利用 SPSS 17.0 软件对表 3 中数据进行分析, 结果发现以虎杖苷为指标时, 虎杖提取物低剂量组与中、高剂量组比较均具有显著性差异 ($P < 0.05$); 中剂量组与高剂量组比较则无显著性差异; 提示虎杖提取物中虎杖苷在胃内吸收不是随着给药剂量的增加而增加, 具有浓度饱和现象, 可能是主动吸收或易化扩散机制。不同组别的白藜芦醇吸收速率结果分析为 $F = 609.724, P = 0 < 0.05$, 具有显著性差异,

表 3 虎杖提取物中虎杖苷及白藜芦醇的胃吸收速率 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Gastric absorption rates of polydatin and resveratrol in *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix extract* ($\bar{x} \pm s, n=6$)

成分	剂量/g·L ⁻¹	吸收速率/μg·h ⁻¹
虎杖苷	1	32.611 ± 6.336
	2	94.499 ± 9.016
	4	102.725 ± 15.724
白藜芦醇	1	8.588 ± 0.459
	2	17.331 ± 2.074
	4	32.852 ± 0.830

提示虎杖提取物的质量浓度对白藜芦醇在胃中的吸收有影响,且随着质量浓度的增大,吸收速率也增大,提示其吸收机制可能为被动转运。

2.7 大鼠在体肠吸收试验^[8-9] 雄性 SD 大鼠 18 只,随机分为低、中、高(300,600,1 200 mg·L⁻¹)3 个剂量组,用 7% 水合氯醛(350 mg·kg⁻¹)腹腔注射后麻醉固定,沿大鼠腹中线打开腹腔约 2.5 cm,于幽门下约 1 cm 处和盲肠上端约 5 cm 处各切一小口,在上端小口处插入直径为 0.25 cm 的塑料管,并用细线扎紧,采用注射器将 37 ℃ 的生理盐水缓缓注入大鼠小肠内,洗去小肠内容物至净,将小肠肠管两端的塑料管与蠕动泵的胶管连接以形成回路,开启蠕动泵后稳定 10 min,泵入空气使肠道内剩余液体排尽,用肠循环液以流速 5 mL·min⁻¹ 循环 10 min,将流速调至 2.5 mL·min⁻¹,立即在肠循环液锥形瓶中取样 2 mL,同时往锥形瓶中补加酚红液 2 mL,并同时计时为 0 h,随后每隔 15 min 按同法取样,并同时补加酚红液 2 mL,循环 2 h 后终止实验;将不同时间点肠循环样品液于 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液测定各时间点样品中虎杖苷、白藜芦醇和酚红的质量浓度,根据酚红质量浓度,计算供试液的体积,通过每一时间段药物的质量浓度变化及供试液体积的变化,计算肠循环液中剩余药量(X),根据 Fick 方程,以肠循环液中剩余药量的对数值($\ln X$)对取样时间 t 作线性回归方程,得方程 $\ln X = \ln X_0 - K_a \times t$,式中 X_0 为肠循环液 0 h 时刻的药量,从直线斜率可求吸收速率常数(K_a),根据 K_a 计算吸收半衰期($t_{1/2}$),公式为 $t_{1/2} = 0.693/K_a$;单位时间吸收率(P)的计算公式为 $P = (C_0 \times V_0 - C_t \times V_t) / (C_0 \times V_0 \times t) \times 100\%$,式中 C_0 和 V_0 分别为肠循环液 0 h 时刻药物质量浓度和体积, C_t 和 V_t 分别为肠循环液 t 时刻药物质量浓度和体积, t 为循环液循环时间。见表 4。

表 4 虎杖提取物中虎杖苷及白藜芦醇的肠吸收情况 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Intestinal absorption of polydatin and resveratrol in *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix extract* ($\bar{x} \pm s, n=6$)

成分	剂量 /mg·L ⁻¹	K_a/h^{-1}	$t_{1/2}/h$	$P/\%$
虎杖苷	300	0.868 ± 0.073	0.804 ± 0.075	41.04 ± 0.013
	600	0.925 ± 0.091	0.755 ± 0.076	41.78 ± 0.008
白藜芦醇	1 200	0.891 ± 0.066	0.781 ± 0.057	41.96 ± 0.006
	300	0.545 ± 0.134	1.345 ± 0.363	33.86 ± 0.038
	600	0.575 ± 0.047	1.211 ± 0.098	34.51 ± 0.012
	1 200	0.634 ± 0.040	0.951 ± 0.071	36.15 ± 0.020

利用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,发现不同质量浓度虎杖苷的 K_a 分析结果为 $F = 0.835, P = 0.453 > 0.05$;吸收率统计结果 $F = 1.570, P = 0.240 > 0.05$,均无显著性差异。白藜芦醇的 K_a 分析结果 $F = 1.688, P = 0.218 > 0.05$;吸收率分析结果 $F = 1.236, P = 0.319 > 0.05$,均无显著性差异。表明组间差异无统计学意义,提示不同质量浓度虎杖提取物对虎杖苷和白藜芦醇的肠吸收无浓度饱和现象,提示其在肠道内的吸收可能是被动扩散。

3 讨论

大鼠在体肠灌注模型是被广泛认可的在生物药剂分类学中研究药物与候选药物吸收代谢特性的有效模型之一,其特点是在整个实验过程中灌流的肠段均有血流供应,且可以维持 8 h,然而一个完整的肠吸收实验只需持续 2~3 h。研究胃肠道吸收常用的方法有在体肠灌注法、肠外翻囊法及 Caco-2 细胞模型,其中肠外翻囊法在实验过程中容易造成形态学的破坏,且缺乏神经及血液供应,易导致组织死亡;Caco-2 细胞模型对供试样品要求较高,且不能代替整体动物实验^[10];而在体肠灌注法直接研究了吸收部位的吸收情况,排除了转运速度和胃排空等影响因素,且该方法简单易行^[11]。说明在体肠灌注模型非常适合研究药物在肠道的吸收,故本实验采用大鼠在体灌注法研究虎杖提取物的肠吸收情况。

大鼠的小肠在吸收药物的同时也会吸收一定量的水分,会导致供试液体积不断减少,故不能直接测定出的药物浓度,由于酚红为大分子络合物,不会被肠道吸收,故课题组利用酚红质量浓度变化从而计算出不同时刻供试液体积,进而计算出剩余药量,以达到提高实验数据准确性的目的。

本研究所制备的虎杖提取物是以二苯乙烯类和蒽醌类为主要有效部位,代表性成分虎杖苷、白藜芦醇、大黄素和大黄素甲醚的质量分数总和 62.23%。

前期对不同 pH 磷酸盐缓冲液条件下 (pH 2.0 ~ 8.5) 虎杖提取物中有效成分的表现油水分配系数 (P_{app}) 进行了测定, 结果发现虎杖苷的 $\lg P_{app}$ 在 0.83 ~ 0.91, 大黄素的 $\lg P_{app}$ 在 2.45 ~ 2.77, 由于白藜芦醇和大黄素甲醚含量较少且脂溶性强的缘故, 未能检测出提取物中白藜芦醇和大黄素甲醚的 $\lg P_{app}$ 。文献[12]测得白藜芦醇纯品在不同 pH 磷酸盐缓冲液条件下 (pH 1.2 ~ 7.8) 的 $\lg P_{app} = 2.34 \sim 2.89$ 。说明虎杖苷、白藜芦醇和大黄素的 $\lg P_{app}$ 均处于 0 ~ 3, 提示虎杖提取物在胃肠道条件下具有较好的吸收性能^[13]。但大黄素及大黄素甲醚在胃肠道条件下不稳定, 易分解, 无法对大黄素及大黄素甲醚的胃肠吸收动力学行为进行追踪, 故本研究只对虎杖提取物中虎杖苷和白藜芦醇的大鼠在体胃肠道的吸收特性进行了初步研究, 结果提示虎杖苷及白藜芦醇在胃和小肠的吸收均较好, 虎杖苷在胃内可能是主动吸收或易化扩散机制, 而白藜芦醇在胃内的吸收机制可能是被动转运; 虎杖苷和白藜芦醇在肠道内的吸收可能是被动扩散机制, 这为下一步虎杖提取物口服制剂的剂型设计及临床应用提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 任丽, 欧水平, 陈灵, 等. 虎杖提取物及其有效部位的大鼠抗痛风性关节炎试验[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(19): 111-115.
[2] 樊慧婷, 丁世兰, 林洪生. 中药虎杖的药理研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(15): 651-653.
[3] LI L, XU S, YIN Z, et al. The antibacterial activity and action mechanism of emodin from *Polygonum cuspidatum* against *Haemophilus parasuis* in vitro[J]. Microbiol Res,

2016, 186-187: 139-145.
[4] Lee C C, CHEN Y T, Chiu C C, et al. Polygonum cuspidatum extracts as bioactive antioxidants, anti-tyrosinase, immune stimulation and anticancer agents[J]. J Biosci Bioeng, 2015, 119(4): 464-469.
[5] 时圣明, 潘明佳, 王文倩, 等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 313-317.
[6] 李楠, 冯玲玲, 蒋学华, 等. 黄芩苷磷脂复合物大鼠在体胃肠道吸收研究[J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(12): 994-998.
[7] 徐莉, 孙星, 林桂涛. 华蟾酥毒基在大鼠胃肠道的吸收动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1): 102-106.
[8] 张洪敏, 莫舒, 韩馥蔓, 等. 在体单向灌流法研究 ZYS-01 的大鼠肠吸收特性[J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(13): 1143-1147.
[9] 赵鑫, 张学兰, 姜秋, 等. 橄榄苦苷与羟基酪醇的大鼠在体胃肠吸收比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(16): 6-9.
[10] 廖沙, 谢剑炜. Caco-2 细胞模型在药物体外研究中的应用[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(4): 416-419.
[11] 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.
[12] 严建业, 王元清, 黄丹, 等. HPLC-DAD 测定虎杖苷、白藜芦醇、大黄素的平衡溶解度及表现油水分配系数[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2628-2632.
[13] 陆慧, 贾晓斌, 韦英杰, 等. 灵芝三萜表现油水分配系数的测定及其在体肠吸收[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 12-16.

[责任编辑 刘德文]