

绿原酸的吸收与代谢研究进展

高茹, 林以宁, 梁鸽, 高缘*
(中国药科大学, 南京 211198)

[摘要] 分析绿原酸的吸收部位、吸收机制、代谢部位、代谢途径及中药配伍后对绿原酸药动学的影响。查阅了近年来的国内外相关资料29篇,并对其进行归纳、分析、总结。目前研究表明,绿原酸在胃、小肠、大肠均有吸收,其中,在胃和小肠中以原型吸收入血;另外,绿原酸的吸收还受空腹或饱腹的影响。绿原酸代谢主要部位在肠道,在肝脏中也有部分代谢。中药配伍还能促进绿原酸在体内的吸收分布,使其迅速达到峰浓度。建议进一步研究绿原酸主要吸收部位及在胃内的吸收机制,以及绿原酸的代谢产物对其活性的作用,为了解绿原酸的体内过程、探讨吸收代谢与活性的相关性以及绿原酸的药代动力学研究提供参考。

[关键词] 绿原酸;吸收;代谢;药代动力学

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0316-05

Absorption and Metabolism of Chlorogenic Acid

GAO Ru, LIN Yi-ning, LIANG Ge, GAO Yuan*
(China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] To summarize chlorogenic acid in absorption site and mechanism, metabolic site and pathways, and effect on pharmacokinetic parameters of chlorogenic acid with crude drugs compatibility. Recent relevant information and references were summarized, and further analyzed and reviewed. The current study showed that chlorogenic acid could be absorbed in the stomach, small intestine and large intestine, which was absorbed into the bloodstream in the original form by the stomach and small intestine. In addition, the absorption of chlorogenic acid was also affected by fasting or satiety. The main metabolic part of chlorogenic acid was in the intestine, as well as some in the liver. Chinese compatibility can promote the absorption and distribution of chlorogenic acid in the body in order to quickly reach peak concentration. We should carry out further studies on the main absorption site, mechanism of absorption in the stomach, the role of the metabolites of chlorogenic acid on its activity, and provide useful references to understand the process of chlorogenic acid *in vivo*, explore the association between absorption and metabolism with activity, and study pharmacokinetic.

[Key words] chlorogenic acid; absorption; metabolism; pharmacokinetic

绿原酸(chlorogenic acid)为5-O-咖啡酰奎尼酸,又名咖啡鞣酸,由咖啡酸与奎尼酸生成的缩酚酸^[1]。绿原酸在中药材和食物中分布广泛,是植物体在有氧呼吸过程中经莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物^[2],是许多中草药及中

药复方制剂抗菌消炎、清热解毒的主要活性成分^[3]。自由基与癌症、心血管疾病、糖尿病的发生发展息息相关,绿原酸还具有很好的清除自由基、抗氧化作用^[4],可抑制氧自由基对机体的损伤,如抗肝损伤^[5]、抑制肝纤维化^[6]、增强机体免疫功能^[7]和解热作用^[8]。近年来绿原酸作为国际公认的植物黄金引起了较多关注,各方面的研究报道越来越多^[9]。绿原酸的生物活性在很大程度上取决于其吸收和代谢,本文对绿原酸的吸收和代谢研究进行了归纳总结,以期探讨绿原酸及其代谢产物与药理活性的相关性、以及药代动力学的研究提供参考。

1 绿原酸的吸收特征

1.1 吸收部位 绿原酸在胃、小肠、大肠均有吸收。其中,

[收稿日期] 20111210(002)

[基金项目] 江苏省基础研究计划(自然科学基金)项目(BK2010429)

[第一作者] 高茹,硕士,从事中药制剂研究,E-mail: gaoru_1986@126.com

[通讯作者] *高缘,博士,副教授,从事药物制剂新剂型与新技术研究,E-mail: newgaoyuan@163.com

在胃和小肠中以原型吸收入血。将绿原酸给予胃结扎的大鼠,在胃的静脉和动脉中均可检出绿原酸原型,说明绿原酸在胃中以原型迅速吸收^[10]。

绿原酸经胃进入小肠后,由于小肠中的酯酶活性低^[11],及小肠中的酯酶水解羟基肉桂酸甲酯类化合物^[12],因此绿原酸多以原型存在,代谢物很少(<1%)。在回肠造口术自愿者实验中发现,约1/3(29%)的绿原酸能够在小肠被吸收入血^[13],在回肠造口术的大鼠实验中也发现,约1/3(33%)的绿原酸从小肠吸收进入血液循环^[14],绿原酸在人与大鼠小肠中的吸收量相当。

约有70%的绿原酸能够进入盲肠^[13],但大部分绿原酸被肠道菌群代谢,盲肠中可检测到较多的咖啡酸。健康自愿者口服咖啡,多数绿原酸类化合物的血药浓度呈现双峰, T_{max1} 为0.5~1 h, T_{max2} 为1.5~4 h,提示绿原酸类化合物在小肠和大肠中均有吸收^[13,15],但对绿原酸的吸收存在较大个体差异,有的自愿者主要吸收部位在小肠,有的在大肠,推测可能由于转运时间、优势吸收部位、代谢情况的不同导致了个体差异。

1.2 吸收机制 绿原酸在胃部快速吸收,但其吸收机制尚不清楚,存在于胃壁上皮细胞的一种有机阴离子转运载体——胆移位酶可能参与这种吸收^[10]。

陈媚等^[16]以Caco-2细胞模型比较了绿原酸的跨细胞转运特点及其机制。结果表明:在Caco-2细胞单层模型上,绿原酸累积吸收量随时间延长逐渐增加,且与加入量呈正比关系,绿原酸累积吸收量既是时间依赖性过程,在某种程度上又是浓度依赖性过程,有被动转运过程。但绿原酸在Caco-2细胞单层模型上的吸收其直线相关不是很好,呈曲线型但无饱和特征,提示它不是一个简单的被动扩散或主动转运过程,而是某种较为复杂的混合动力学过程,即被动扩散和主动转运过程可能均参与其中。另有研究表明:小肠肠壁上皮细胞膜的钠离子依赖葡萄糖转运载体(SGLT1)对肉桂酸、阿魏酸、羟基肉桂酸有专属性,SGLT1可能参与了绿原酸的

转运。位于小肠刷状缘膜和基底-外侧膜钠离子依赖二羧酸共转运蛋白(SDCT1),参与了双咖啡酰奎尼酸的转运^[17]。

绿原酸肠道转运中分泌和吸收过程同时存在,绿原酸跨Caco-2细胞分泌实验表明,加入P-gp抑制剂维拉帕米后,绿原酸的分泌明显减少,说明绿原酸在Caco-2模型上的分泌机制有P-gp参与。

1.3 吸收影响因素 绿原酸的吸收受空腹或饱腹的影响,有研究报道将绿原酸单体或咖啡给予空腹健康自愿者或禁食大鼠,给药30~60 min后,在血浆中很快可以检测到咖啡酸^[11,18],与之相对,健康自愿者早餐时饮用咖啡,尿液中仍可检测到绿原酸原型^[19],由此推测空腹时,绿原酸很快进入小肠,在肠道上段被水解成咖啡酸所致。

2 绿原酸的代谢特征

绿原酸进入生物体后发生了广泛的代谢,通过体内外试验,结合排出体外的代谢产物推测了绿原酸在体内的生物转化。绿原酸在肠道和肝脏均发生生物转化,Keiko Azuma^[20]比较了大鼠灌胃与腹腔注射绿原酸后血浆中血药浓度,结果灌胃给药的血浆中未检测到绿原酸原型,而腹腔注射给药血浆中绿原酸原型浓度高,可见少量代谢物,由此说明肠道是绿原酸代谢的主要部位。

2.1 在肠道中的代谢 肠黏膜的酯酶和肠道菌群均具有水解作用。为搞清绿原酸在肠道中的水解途径,Geoff等^[21]将人小肠上皮组织、粪便的提取物在体外与绿原酸共孵育,结果粪便孵育物检测到咖啡酸,小肠上皮组织未检出,绿原酸以原型存在。另项实验Goodwin^[22]比较了大鼠肠道中的微生物对绿原酸代谢的影响,结果无菌大鼠给药后,绿原酸以原型存在;而普通大鼠给药后,很快能检测到咖啡酸。将抗生素与绿原酸联合给予大鼠后,绿原酸的代谢减少,以上体内外实验表明肠道菌群是造成绿原酸水解的主要因素,绿原酸被酯酶水解为咖啡酸和奎尼酸,咖啡酸和奎尼酸随之发生进一步代谢(图1)。

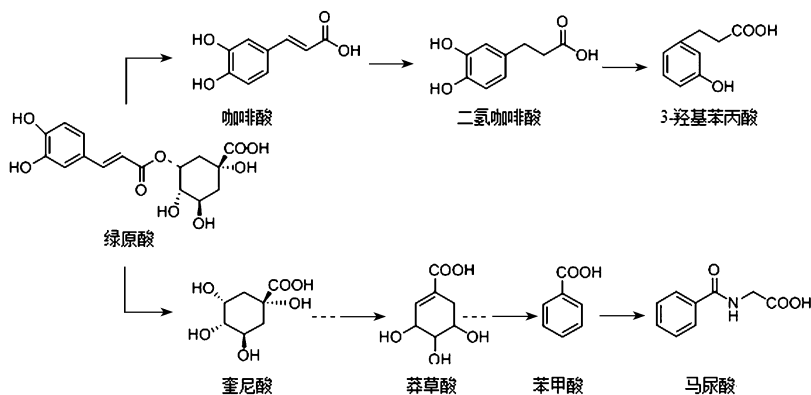


图1 绿原酸在肠道中的代谢途径及代谢产物

绿原酸与人粪便共孵育,在不同菌株的综合作用下发生多种转化。体外实验表明:从人粪便中分离得到的*Escherichia coli*、*Bifidobacterium lactis*和*Lactobacillus gasseri*可将绿原酸水解为咖啡酸和奎尼酸^[23],*Peptostreptococcus* sp.与

*Clostridium perfringens*可将咖啡酸还原为二氢咖啡酸,二氢咖啡酸在*E. coli*与*Streptococcus fecalis* var. *liquifaciens*共同作用下,脱羟基生成3-羟基苯丙酸。由于人和大鼠肠道菌群有差异,导致绿原酸在人和大鼠肠道中的代谢不尽相同,人尿

液中检测到的主要代谢物为阿魏酸、阿魏酰甘氨酸、二氢咖啡酸、二氢阿魏酸、间香豆酸、3-羟基苯丙酸、间香豆酰葡萄糖醛酸、香草酸及香草酰甘氨酸；而大鼠尿液排泄的代谢物与人最大的区别表现为 3-羟基苯丙酸为主要成分^[24]。

奎尼酸与新霉素同时给予大鼠，可减少奎尼酸的代谢，说明肠道菌对奎尼酸发生了生物转化。在肠道菌群的作用下，母核转化为芳香环，变为莽草酸，再经脱羧基后变为苯甲酸，苯甲酸与甘氨酸结合形成马尿酸排泄到尿液。由于不同种属动物的肠道菌组成不同，服用相同剂量的奎尼酸后，尿液中马尿酸的量差异较大^[24]。

2.2 在肝脏中的代谢 透过肠道屏障的绿原酸、咖啡酸和

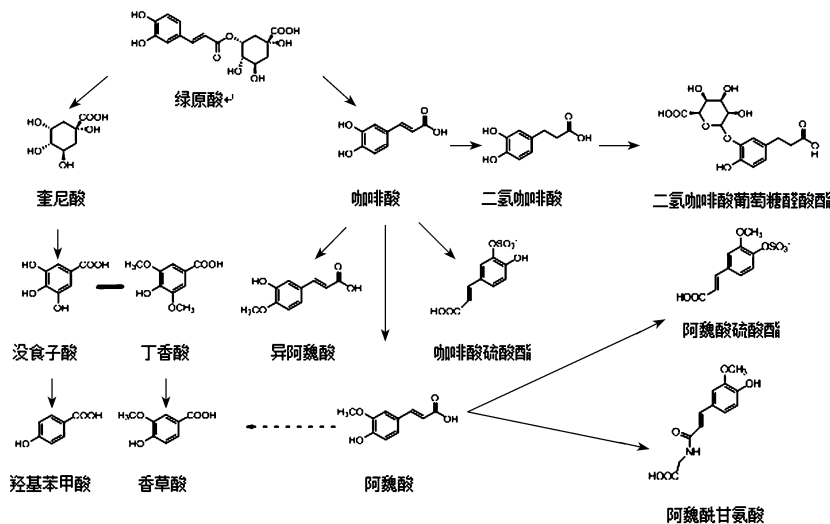


图 2 绿原酸在肝脏中的代谢途径及代谢产物

3 药物配伍对绿原酸药动学的影响

中药有效成分是发挥药效的物质基础，中药复方配伍应用后，由于成分繁多，其在体内的作用也是复杂多样。因此，分析复方中绿原酸药动学的变化，将为解释复方配伍规律、临床联合用药提供参考和依据。

3.1 金银花-连翘配伍对绿原酸体内药动学的影响 金银花-连翘是临床上公认的常用有效药对，称之为银翘药对。绿原酸是金银花的主要成分，陈敏等^[27]给健康家兔肌注金银花单提注射液(A)，金银花、连翘混合提取注射液(B)，金银花、连翘单提合并注射液(C)后，发现金银花配伍连翘后能促进绿原酸在体内的吸收分布，迅速达到峰浓度，对消除半衰期的影响不大。另外，B与C中绿原酸的药动学参数差异不显著，表明连翘与金银花配伍时，不管是混提还是单提后合并，对绿原酸在家兔体内的药动学特征无明显影响。

3.2 金银花、连翘、黄芩三者配伍对绿原酸药动学的影响 双黄连粉针剂由金银花、连翘、黄芩 3 味药组成，主要成分为绿原酸、黄芩苷、连翘苷，其中黄芩苷和绿原酸是许多中药注射剂的有效成分。胡樱等^[28]研究表明，大鼠分别静脉注射绿原酸和含等剂量绿原酸的双黄连粉针剂后，二者在大鼠体内均符合二室开放模型，但多个主要药动学参数(ρ_{max} , AUC, CL, Vd)都存在显著差异，而 $t_{1/2}$ 则不存在显著差异，表明消除速率差异不大。该差异可能存在于分布过程，血浆蛋白结

奎尼酸进一步在肝脏中代谢^[25](图 2)。绿原酸水解为咖啡酸和奎尼酸，咖啡酸的代谢途径有：①甲基化反应：当咖啡酸给予肠道中没有微生物的大鼠，尿液中可检测到咖啡酸和阿魏酸，说明甲基化发生于肝脏。咖啡酸的羟基在肝脏儿茶酚邻位甲基转移酶的作用下，发生甲基化，形成邻位羟基一甲氧基，转化为阿魏酸和异阿魏酸；②氧化反应：阿魏酸的侧链被氧化，生成香草酸；③还原反应：侧链的不饱和键被还原，代谢物有二氢阿魏酸、二氢咖啡酸、二氢异阿魏酸；④结合反应：与葡萄糖醛酸、硫酸、甘氨酸结合成酯，如咖啡酸形成 3-或 4-O-硫酸酯；阿魏酸形成阿魏酸 4-O-硫酸酯^[13]；马尿酸与甘氨酸结合^[26]。

合率以及转运蛋白的改变等原因可能造成双黄连粉针剂中的绿原酸的清除率减小，血药浓度增大。

黄芩苷配伍绿原酸，可以提高绿原酸的生物利用度，减缓绿原酸在体内的消除，延长绿原酸在家兔体内的作用时间，但黄芩苷具体影响绿原酸代谢的哪个环节有待于进一步研究^[29]。

陈娟等^[16]以 Caco-2 细胞模型比较了绿原酸单体、双黄连口服液中绿原酸的跨细胞转运特点，结果发现在吸收方面，双黄连口服液中绿原酸吸收的达峰时间较绿原酸单体快且峰值也相对较大，累积吸收量要高于绿原酸单体；在分泌方面，双黄连口服液中绿原酸在 Caco-2 细胞模型上的分泌有明显的饱和性，较绿原酸单体分泌量明显下降，推测复方中其他化学成分可能改变了细胞膜的通透性或者抑制转运蛋白减少外排分泌，从而促进吸收。

4 结语

绿原酸为多酚类化合物，在植物中分布广泛，抗氧化作用强。吸收和代谢是药物体内过程中两个重要的步骤，体内过程与药理活性密切相关。吸收是药物产生体内活性的先决条件，药物在体内的活性往往与代谢产物密切相关。根据目前研究，绿原酸的体内过程为：绿原酸进入体内后，少量以原型在胃和小肠吸收，然后在肠黏膜的酯酶和肠道菌群的作用下水解为咖啡酸、阿魏酸；大部分进入结肠后，经过了广泛

代谢,透过肠道屏障的绿原酸、咖啡酸和奎尼酸在肝脏中经甲基化反应、氧化反应、还原反应、结合反应4个途径进行进一步的代谢;绿原酸的代谢广泛,有的研究在血浆中检测不到绿原酸原型。在此过程中,绿原酸的吸收还受空腹或饱腹的影响。另外,金银花-连翘配伍及金银花、连翘、黄芩三者配伍均能促进绿原酸在体内的吸收分布,迅速达到峰浓度。综上所述,因个体差异较大,尚未确定绿原酸的主要吸收部位;绿原酸在胃内的吸收机制也未明晰;同时绿原酸的代谢产物咖啡酸、阿魏酸都具有很好的抗氧化活性,它们对绿原酸活性的发挥起到什么作用尚有待进一步研究。因此,建议进一步确定绿原酸体内代谢中潜在的抗氧化物质,将对认识吸收率低的多酚类化合物的生物活性成分,以及开发、利用多酚类化合物具有重要的意义。

[参考文献]

- [1] 郭晓园,罗磊. 金银花中绿原酸检测方法对比研究[J]. 食品科技,2010,35(4):251.
- [2] 高锦明,张鞍灵,张康健,等. 绿原酸分布、提取与生物活性研究[J]. 西北林学院学报,1999,14(2):73.
- [3] 郭秋娟,金邦荃,陈和平. 绿原酸生物活性与提取方法的研究进展[J]. 食品工业科技,2009,30(8):346.
- [4] 吴江涛. 绿原酸的生物活性及其应用[J]. 现代农业科技,2009,19(5):34.
- [5] 史秀玲,高银辉. 绿原酸对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):199.
- [6] 戚晓渊,史秀玲,高银辉,等. 绿原酸抗肝纤维化作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):139.
- [7] 张建华,姚素波,刘洁,等. 绿原酸对小鼠免疫功能的影响[J]. 华西药学杂志,2009,24(4):343.
- [8] 郑璐璐,张贵君,张春晖,等. 黄金菊药效组分解热的生物效应[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):196.
- [9] 陈少萍. 绿原酸药代动力学研究进展[J]. 中成药,2010,32(4):645.
- [10] Lafay S, Gil-Izquierdo A, Manach C, et al. Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats[J]. J Nutr,2006,136:1192.
- [11] Azuma K, Ippoushi K, Nakayama M, et al. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration[J]. J Agric Food Chem,2000,48:5496.
- [12] Andreassen M F, Kroon P A, Williamson G, et al. Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals[J]. J Agric Food Chem,2001,49:5679.
- [13] Stalmach A, Steiling H, Williamson G, et al. Bioavailability of chlorogenic acids following acute ingestion of coffee by humans with an ileostomy[J]. Arch Biochem Biophys,2010,501:98.
- [14] Olthof M R, Hollman P C, Katan M B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans[J]. J Nutr,2001,131:66.
- [15] Monteiro M, Farah A, Perrone D, et al. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans[J]. J Nutr,2007,137(10):2196.
- [16] 陈媚,宋必卫. 中药复方中绿原酸与绿原酸单体的跨细胞转运及其机制的比较研究[D]. 杭州:浙江工业大学,2009.
- [17] Michael N Clifford. Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism[J]. J Sci Food Agric,2000,80:1033.
- [18] Nardini M, Cirillo E, Natella F, et al. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption[J]. J Agric Food Chem,2002,50:5735.
- [19] Ito H, Gonthier M P, Manach C, et al. Polyphenol levels in human urine after intake of six different polyphenol-rich beverages[J]. Br J Nutr,2005,94:500.
- [20] Azuma K, Ippoushi K, Nakayama M, et al. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration[J]. J Agric Food Chem,2000,48(11):5496.
- [21] Geoff W Plumb, Maria T Garcia-Conesa, Paul A Kroon, et al. Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut microflora[J]. J Sci Food Agric,1999,79:390.
- [22] Goodwin B L, Ruthven C R, Sandler M. Gut flora and the origin of some urinary aromatic phenolic compounds[J]. Biochem Pharmacol,1994,47:2294.
- [23] Couteau D, McCartney A L, Gibson G R, et al. Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyse chlorogenic acid[J]. J Appl Microbiol,2001,90:873.
- [24] Hideko Morishita, Motoyo Ohnishi. Absorption, metabolism and biological activities of chlorogenic acids and related compounds[J]. Studies in Natural Products Chemistry,2001,25:919.
- [25] Farah A, Monteiro M, Donangelo C M, et al. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans[J]. J Nutr,2008,138:2309.
- [26] Gonthier M P, Verny M A, Besson C, et al. Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats[J]. J Nutr,2003,133:1853.
- [27] 陈敏,朱焕星,熊祝新,等. 绿原酸在家兔体内的药理学研究[J]. 中国兽药杂志,2010,44(18):13.
- [28] 胡樱,程明川,杭太俊,等. 绿原酸和双黄连粉针剂中的成分绿原酸在大鼠体内的药理学比较[J]. 中国新药与临床杂志,2009,28(4):301.
- [29] 李朝霞,倪健,方冠南,等. 黄芩苷对绿原酸在家兔体内药代动力学的影响[J]. 中国中药杂志,2010,35(24):3291.

[责任编辑 邹晓翠]

首届全国方剂组成原理高峰论坛征文通知

尊敬的各位专家、医药界同行及各有关单位代表:

为了推动中医方剂创新研究和开发,进一步加强国内中药复方研究领域的合作与交流,“首届全国方剂组成原理高峰论坛”定于2012年8月17-19日在安徽·黄山国际大酒店隆重召开。届时将会有两院院士、主管部门的领导和国内外著名专家及相关知名企业参会。本次论坛由中国实验方剂学杂志社、天津中医药编辑部共同主办,现代中药国家重点实验室(培育)、北京东石时代国际文化传媒有限公司具体承办。欢迎从事中医方剂及其相关学术领域研究的同行积极参加本次会议,并踊跃投稿。

一、会议主题

交流在中医药基础理论指导下,创新研究思路、运用当代科技的新进展、新技术、新方法,通过对中医方剂的作用机制及其物质基础研究,注释和阐明方剂的组成原理和配伍规律的新成果,促进中医药理论创新和临床实践。

二、大会征稿要求

1. 会议内容

- 1.1 中医方剂研发动态以及国家立项资助的重点领域。
- 1.2 新药研究进展及其审批指导原则解析。
- 1.3 中医方剂新药的注册管理及其知识产权保护。
- 1.4 中医方剂的药效学及其安全性评价最新进展。
- 1.5 中医方剂药理及实验模型研究。
- 1.6 中医方剂配伍理论及现代研究与发展。
- 1.7 中医方剂化学成分研究。
- 1.8 中医方剂的作用物质基础和作用机制。
- 1.9 中医方剂制剂的质量标准控制分析及其质量标准的研究。
- 1.10 中医药制剂的新技术、新辅料、新设备研发与应用。
- 1.11 新制剂和新释药系统的研发与应用(靶向、透皮、黏膜、口服缓控释、生物技术给药系统等)。
- 1.12 中医方剂临床研究和治疗经验、成果与体会。
- 1.13 中医药多学科交叉创新研究。
- 1.14 中医药的其他研究。

2. 征文要求

(1) 论文内容能反映国内中医方剂及中医药研究前沿和热点。

(2) 本次会议征集的学术论文须附中英文摘要,统一为 Word 文档(A4 纸),论文发至 syfjx_2010@188.com 信箱。请在论文首页注明“首届全国方剂组成原理高峰论坛”字样。

(3) 论文观点明确、论证充分、内容真实客观。每篇论文 5 000 字左右,摘要 300~500 字。内容包括:论文题目、作者姓名、工作单位、通讯地址、邮政编码、电话、中英文摘要、关键词、正文、参考文献、作者简介。

3. 征文刊登

(1) 所有征文审核合格者一并刊登大会论文摘要集。

(2) 参会论文符合杂志要求的将优先在《中国实验方剂学》杂志、《天津中医药》杂志上发表。

三、会议论文截止时间

截止日期:2012年6月30日。

四、报名方式

欲参会者请在2012年6月30日前填写参会回执,发送传真至:010-58851352 或者发 E-mail 至:fjltzwh@vip.126.com(参会回执请在中国实验方剂学杂志 www.syfjxzz.com 网站上下载)。

五、联系方式

联系人:孙涛,电话:010-58841606;手机:13681131397

中国实验方剂学杂志社
天津中医药编辑部