

· 代谢 ·

## 斯皮诺素在体胃肠吸收动力学研究

张婷<sup>1,2</sup>, 解军波<sup>1</sup>, 刘子艳<sup>3</sup>, 张彦青<sup>1\*</sup>, 陈大为<sup>2\*</sup>

(1. 天津商业大学制药工程系, 天津 300134; 2. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016;  
3. 天津市第四中心医院, 天津 300140)

**[摘要]** **目的:** 研究斯皮诺素在大鼠胃、肠及各肠段的吸收动力学, 为其剂型设计提供生物药剂学依据。**方法:** 采用大鼠在体胃肠吸收模型, 用高效液相色谱法测定胃肠灌注液中药物的浓度。**结果:** 不同质量浓度(10, 20, 40 mg·L<sup>-1</sup>)的斯皮诺素在大鼠胃部 2 h 的吸收百分率分别为 20.35%, 21.88%, 20.23%; 药物在十二指肠、空肠、回肠、结肠的吸收速率常数为(0.026 4 ± 0.001 4), (0.023 4 ± 0.000 9), (0.022 6 ± 0.000 9), (0.026 5 ± 0.000 6) h<sup>-1</sup>; 药物质量浓度为 10, 20, 40 mg·L<sup>-1</sup> 时, 肠的吸收速率常数分别为(0.023 1 ± 0.001 5), (0.024 1 ± 0.001 6), (0.023 3 ± 0.002 9) h<sup>-1</sup>; 当 pH 为 6.5, 7.2, 7.8 时, 肠的吸收速率常数分别为(0.023 5 ± 0.001 5), (0.024 1 ± 0.001 6), (0.022 1 ± 0.002 6) h<sup>-1</sup>。**结论:** 斯皮诺素在大鼠胃肠道各部分均有吸收, 且吸收呈一级动力学过程, 吸收机制为被动扩散; 药物在大鼠肠内吸收不受药物浓度和 pH 的影响; 药物的吸收按十二指肠、结肠、空肠、回肠的顺序依次下降, 药物在胃中的吸收较好。

**[关键词]** 斯皮诺素; 原位灌注模型; 吸收动力学

**[中图分类号]** R285.5; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0134-06

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1202.010.html>

**[网络出版时间]** 2012-05-04 12:02

## Absorption Kinetics of Spinosin in Rat Gastrointestinal

ZHANG Ting<sup>1,2</sup>, XIE Jun-bo<sup>1</sup>, LIU Zi-yan<sup>3</sup>, ZHANG Yan-qing<sup>1\*</sup>, CHEN Da-wei<sup>2\*</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;  
2. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;  
3. Tianjin 4th Centre Hospital, Tianjing 300140, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the absorption kinetics of spinosin in the gastrointestinal of rat, to provide the biological pharmaceutical basis for dosage design. **Method:** The absorption kinetics was investigated in rats using situ perfusion method. RP-HPLC was used to determine the concentrations of spinosin. **Result:** The absorption percentages at concentration of (10, 20, 40 mg·L<sup>-1</sup>) in stomach were 20.35%, 21.88%, 20.23%, respectively. The absorption rate constant ( $K_a$ ) in duodenum, jejunum, ileum and colon were (0.026 4 ± 0.001 4), (0.023 4 ± 0.000 9), (0.022 6 ± 0.000 9), (0.026 5 ± 0.000 6) h<sup>-1</sup>, respectively. Intestinal  $K_a$  of spinosin at different concentrations (10, 20, 40 mg·L<sup>-1</sup>) were (0.023 1 ± 0.001 5), (0.024 1 ± 0.001 6), (0.023 3 ± 0.002 9) h<sup>-1</sup>, respectively.  $K_a$  at pH of 6.5, 7.2 and 7.8 for the whole intestine were (0.023 5 ± 0.001 5), (0.024 1 ± 0.001 6), (0.022 1 ± 0.002 6) h<sup>-1</sup>. **Conclusion:** Spinosin was absorbed in all segments in the pattern of first-order kinetics with the passive diffusion absorption mechanism; concentration and pH of the drug solution have no effect on the absorption kinetics; the absorption at duodenum, colon, jejunum

**[收稿日期]** 20120114(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(1101235, 31000749)

**[第一作者]** 张婷, 硕士生, 从事中药制剂研究, Tel: 13602196583, E-mail: zhangting19860511@126.com

**[通讯作者]** \* 张彦青, 副教授, 博士, 从事中药新剂型与药代研究, Tel: 13752524378, E-mail: zhyanqing@yahoo.com.cn;

\* 陈大为, 教授, 博士, 从事药物新剂型研究, Tel: 024-23986308, E-mail: chendawei@sypu.edu.cn

and ileum align in a decreasing order. Spinosin was well absorbed at stomach.

[Key words] Spinosin; *in situ* perfusion model; absorption kinetics

酸枣仁是卫生部颁布的第一批药食同源两用品<sup>[1]</sup>,其性平味甘、酸,归肝、胆经,对人体安全、无毒、无副作用,主要用于治疗虚烦不眠、惊悸多梦、体虚多汗、津伤口渴等症,是养心安神的首选药品。众多实验研究证明,斯皮诺素作为酸枣仁黄酮的主要有效成分之一,具有镇静催眠作用<sup>[2-5]</sup>。药物动力学表明,斯皮诺素在体内的代谢较低,口服吸收情况较差<sup>[6]</sup>,因此研究药物在胃肠道各段的吸收部位特异性以及机制对于设计口服制剂以提高其生物利用度具有重要意义<sup>[7-8]</sup>。

本文采用大鼠在体灌流的方法建立了斯皮诺素大鼠胃肠吸收模型,采用高效液相色谱(HPLC)测定药物的含量,通过考察斯皮诺素在胃、小肠、结肠的吸收情况,了解该药在胃肠道的吸收特征,为提高其口服生物利用度和开发口服制剂提供生物药剂学依据。

## 1 材料

UV7504型紫外分光光度计(上海欣茂仪器有限公司),HL-2型恒流蠕动泵(上海青浦沪西仪器厂),LG10-2.4A型离心机(北京众益中和生物技术有限公司),EMS2型加热定时数显温控磁力搅拌器(上海硕光电子科技有限公司),Agilent 1100 Series高效液相色谱仪、DAD紫外检测器、色谱工作站(Agilent,美国)。

斯皮诺素对照品(成都思科华生物技术有限公司)、苯酚红(天津市化学试剂一厂)、甲醇(光复Reagent,天津市光复精细化工研究所)、甲醇(分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司)、纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

SD大鼠,雄性,体重(200±20)g,给药前禁食12h,实验期间自由饮水,购自天津市山川红实验动物科技有限公司,合格证号:SCXK(津)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

**2.1.1 人工胃液** 按《中国药典》2005年版二部附录XA项下配制含胃蛋白酶的人工胃液。

**2.1.2 Krebs-Ringer's 营养液**(简称K-R试液,pH 7.2) 称取NaCl 7.80 g,KCl 0.35 g,NaHCO<sub>3</sub> 1.37 g,MgCl<sub>2</sub> 0.02 g,CaCl<sub>2</sub> 0.37 g,NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.32 g,葡萄糖 1.40 g,加水至1 000 mL。

**2.1.3 标准贮备液的制备** 精密称量斯皮诺素10 mg,置于100 mL量瓶中,加人工胃液溶解并定

容,摇匀后作为标准贮备液,质量浓度为100 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.1.4 空白肠循环液** 大鼠禁食16~18 h,自由饮水,术前腹腔注射20%乌拉坦40 mg·kg<sup>-1</sup>,麻醉后固定在手术台上,体温保持37℃。沿腹中线打开3 cm,自十二指肠上部及回肠下部各插入直径约0.5 cm硅胶管后,用线扎紧,37℃预热的生理盐水以5 mL·min<sup>-1</sup>流速冲净小肠内容物,排净生理盐水,在回肠下端插入硅胶管做成循环回路,取K-R试液50 mL,先以5 mL·min<sup>-1</sup>,再以2.5 mL·min<sup>-1</sup>循环4 h,中止试验,即得空白肠循环液。

**2.1.5 斯皮诺素胃灌注液** 精密称定斯皮诺素适量,置于50 mL量瓶中,少量乙醇超声溶解,放冷后用人工胃液定容至刻度,摇匀,得质量浓度为10,20,40 mg·L<sup>-1</sup>的斯皮诺素胃灌注液。

**2.1.6 斯皮诺素肠灌注液** 精密称定适量斯皮诺素和酚红,置于50 mL量瓶中,少量乙醇超声溶解,放冷后用Kreb-Ringer's营养液定容至刻度,摇匀,得到斯皮诺素质量浓度为10,20,40 mg·L<sup>-1</sup>,酚红质量浓度为20 mg·L<sup>-1</sup>的肠循环液。

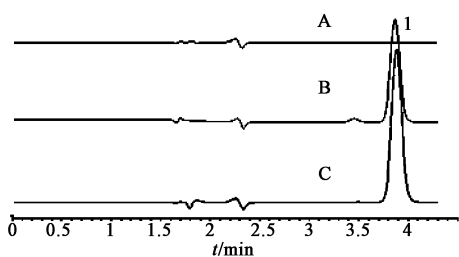
**2.1.7 酚红液** 精密称取酚红20 mg置100 mL量瓶中,加K-R试液溶解定容至刻度,摇匀,得到质量浓度为20 mg·L<sup>-1</sup>的酚红液。

**2.2 色谱条件** Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1%冰醋酸溶液(20:80),检测波长335 nm,流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>,进样量20 μL,柱温30℃。以斯皮诺素的色谱峰计算,理论塔板数为6 619,对称因子为0.96,满足样品分析检测要求。

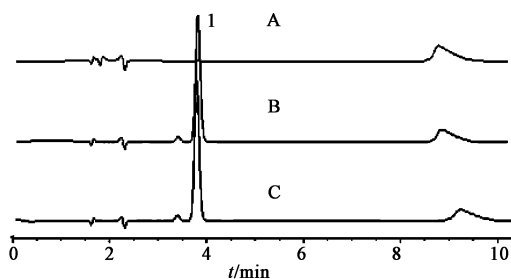
**2.3 系统适应性试验** 分别取斯皮诺素对照溶液、空白循环液、胃灌注液及肠灌注液进样,分别经0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液20 μL进样,按2.2下项色谱条件测定,结果见图1,2。可知,斯皮诺素对照溶液的 $t_R = 3.6$  min,供试液的主峰保留时间与对照液一致,空白液在此条件下无干扰。

### 2.4 斯皮诺素及酚红的含量测定

**2.4.1 胃灌注液中斯皮诺素的含量测定** 分别量取标准贮备液(100 mg·L<sup>-1</sup>)0.5,1,2,3,4,5 mL至10 mL量瓶中,加人工胃液稀释至刻度,摇匀,作为标准液。按上述色谱条件进行测定,以斯皮诺素的浓度 $C$ (mg·L<sup>-1</sup>)对峰面积 $A$ 进行线性回归,得标准曲线方程 $C = 0.022 4A + 0.318 2$ ( $r = 0.999 9$ )。结果



A. 空白人工胃液; B. 对照液; C. 胃灌注液; 1. 斯皮诺素  
图 1 斯皮诺素在胃液中的 HPLC



A. 空白肠循环液; B. 对照液; C. 肠供试液; 1. 斯皮诺素  
图 2 斯皮诺素在肠液中的 HPLC

表明斯皮诺素在  $5.0 \sim 50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。

**2.4.2 肠灌注液中斯皮诺素的含量测定** 精密称量斯皮诺素 10 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加 K-R 试液溶解并定容, 摇匀后作为标准贮备液。分别量取 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加 K-R 试液稀释至刻度, 摇匀, 作为标准液。按上述色谱条进行测定, 以斯皮诺素的质量浓度  $C(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$  对峰面积  $A$  进行线性回归, 得标准曲线方程  $C = 0.020 3A + 0.781 6 (r = 0.999 9)$ 。结果表明斯皮诺素在  $5.0 \sim 50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。

**2.4.3 回收率的测定** 用空白胃、肠循环液配制适量浓度的斯皮诺素溶液, 记录色谱峰与峰面积, 带入标准曲线方程计算浓度。以测定浓度与实际浓度之比, 计算回收率。胃循环液中, 测定高 ( $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、中 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 质量浓度的平均回收率分别为 100.4%, 99.5%, 100.7% ( $n = 3$ ); 肠灌注液中, 高 ( $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、中 ( $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 浓度的平均回收率分别为 101.4%, 100.2%, 98.6% ( $n = 3$ ), 说明该方法准确可靠。

**2.4.4 方法精密度的测定** 分别于日内 0, 2, 5, 8, 12 h 连续测定高、中、低 3 个浓度对照品溶液, 计算日内差; 以 1 周内连续 5 日测定结果计算日间差。胃灌注液中, 高 ( $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、中 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 浓度的日内精密密度为 0.50%, 1.98%, 1.23% ( $n = 5$ ), 日间精密密度为 0.75%, 2.02%, 2.62% ( $n = 5$ ); 肠循环液中, 高 ( $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、中 ( $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 浓度的日内精密密度为

1.98%, 0.94%, 1.21% ( $n = 5$ ), 日间精密密度为 1.39%, 0.63%, 1.88% ( $n = 5$ )。

**2.4.5 肠灌注液中酚红的含量测定** 精密称量酚红 25 mg, 置于 250 mL 量瓶中, 加 K-R 试液溶解并定容, 摇匀后作为标准贮备液 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。分别量取 1, 2, 2.5, 3, 4, 5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加 K-R 试液稀释至刻度, 摇匀, 作为标准液。精密吸取上述标准液各 0.5 mL 至 10 mL 具塞试管中, 加 5 mL  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaOH 溶液显色, 以  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液为空白对照, 于 555 nm 波长处测定其吸光度, 以酚红质量浓度  $C(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$  对吸光度  $A$  进行线性回归, 得标准曲线方程  $C = 58.056A + 0.119 1 (r = 0.999 4)$ 。

**2.5 溶液稳定性考察** 精密量取高、中、低浓度的胃肠灌注液,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴孵育 2~4 h, 分别于 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 h 取样, 测定峰面积, 计算斯皮诺素各时间点峰面积与 0 时刻峰面积的比值作为剩余百分比。结果表明: 2 h 内高、中、低浓度的斯皮诺素在胃灌注液中稳定, RSD 分别为 2.59%, 2.08%, 2.19% ( $n = 3$ ); 4 h 内高、中、低浓度的斯皮诺素在肠循环液中基本稳定 RSD 分别为 1.24%, 1.69%, 1.34% ( $n = 3$ )。

**2.6 胃肠道的吸附、代谢和摄取的考察** 剪取大鼠胃、小肠, 剖开洗净, 分别置胃肠灌注液中, 孵育 ( $37 \pm 0.5$ )  $^\circ\text{C}$  2~4 h, 测定孵育前后的斯皮诺素浓度, 计算孵育后斯皮诺素剩余百分比, 胃、肠中分别为 ( $98.25 \pm 1.37$ )%, ( $99.56 \pm 1.69$ )% ( $n = 3$ ), 可认为大鼠胃肠壁对斯皮诺素无显著物理吸附、代谢和摄取。

**2.7 大鼠原位胃灌注实验<sup>[9]</sup>** 选实验前禁食 24 h (自由饮水), 体重 ( $200 \pm 20$ ) g 左右的 SD 大鼠, 腹腔注射 20% 乌拉坦  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 麻醉后固定。切开腹部, 暴露胃, 在贲门、幽门两处各切一小口, 结扎贲门, 用人工胃液将胃洗净。注射器内吸取含有高、中、低浓度斯皮诺素的胃灌注液 10 mL, 注入 4~5 mL 到胃内又抽回到注射器, 重复几次, 使混合均匀, 全部抽入注射器中, 将 4 mL 混合药液重新注射胃中, 拔出注射器, 结扎幽门。将胃放回腹腔, 用红外灯保持体温  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  左右。在 2.2 项色谱条件下测定斯皮诺素含量, 注射器内留下的药液浓度为药物初始浓度 ( $C_0$ ), 2 h 后抽出胃内药液的浓度为药物终浓度 ( $C_t$ ), 根据斯皮诺素初始浓度和终浓度之差 ( $\Delta C$ ) 计算其胃吸收百分率。

斯皮诺素在大鼠胃 2 h 高 ( $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、中 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 3 个剂量的吸收百分率分别为 ( $20.35 \pm 0.24$ )%, ( $21.88 \pm 1.39$ )%,

( $20.23 \pm 0.93$ )% ( $n = 3$ ), 分别将高、中、低浓度吸收率做方差分析, 结果显示高、中、低浓度差异不显著, 提示斯皮诺素在胃内吸收没有载体参加, 属被动转运过程。

## 2.8 大鼠原位肠灌注实验

### 2.8.1 大鼠原位肠灌注实验法<sup>[9]</sup>

选禁食 24 h (自由饮水), 体重 ( $200 \pm 20$ ) g 的 SD 大鼠, 腹腔注射 20% 乌拉坦  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 麻醉后固定在手术台上, 保持体温在  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 。沿腹中线打开 3 cm, 对考察的肠段于两端切口, 插入硅胶管做成循环回路, 并用手术线扎紧。将肠管两端的硅胶管与蠕动泵的胶管连接, 形成回路, 开动蠕动泵。 $37 \text{ }^\circ\text{C}$  预热的生理盐水以  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  流速冲净小肠内容物, 再排净肠内残留液体。 $37 \text{ }^\circ\text{C}$  预热的药液以  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  流速循环 10 min 后, 将流速调节为  $2.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  立即自灌注液锥形瓶中取液 1 mL,  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心后, 用  $0.45 \text{ } \mu\text{m}$  孔滤膜滤过, 取续滤液, 作为药物和酚红零时间样品, 同时向供试液中补加酚红液 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1 mL。按此方法, 分别于 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4 h 取

样, 过滤, 补加酚红液。实验过程中用灯光照射等法保证肠组织的温度为  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , 并用生理盐水浸渍的纱布覆盖于肠组织表面以保湿。样品以  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 后, 经  $0.45 \text{ } \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 取续滤液  $20 \text{ } \mu\text{L}$  进样, 在 2.2 项色谱条件下测定斯皮诺素含量, 用紫外分光光度法测定酚红含量, 以校正肠道吸收的水分(整肠段插管: 选取十二指肠上端至回肠下端; 分肠段插管: 十二指肠段自幽门 1 cm 处开始, 空肠段自幽门 15 cm 处开始, 回肠段自盲肠上行 20 cm 处开始, 结肠自盲肠后端开始, 各段均取 10 cm)。

### 2.8.2 各部位的药物剩余量计算方法

见表 1。在体肠循环灌注吸收一般属被动扩散过程, 按照 Fick's 方程式经变换后有:  $\ln X = \ln X_0 - K_a t$  (式中:  $X_0$  为吸收前初始药量;  $X$  为吸收后剩余药量;  $t$  为吸收时间), 以  $\ln X$  对时间  $t$  进行回归为一直线, 其斜率为药物在小肠中的表观吸收速率常数  $K_a$ ; 再根据第 0, 4 h 取样点的剩余药量之差值, 计算吸收量和吸收率。

表 1 大鼠在体小肠吸收量的计算式

$t$ /h	斯皮诺素		酚红		$V$	$X$	$\ln X$
	$A$	$C/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$A'$	$C'/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			
吸收前	$A_0$	$C_0$	$A'_0$	$C'_0$	$V_0 = 50 \text{ mL}$	$X_0 = 50 \times C_0$	$\ln X_0$
0	$A_1$	$C_1$	$A'_1$	$C'_1$	$V_1 = C'_0 V_0 / C'_1$	$X_1 = C_1 V_1$	$\ln X_1$
0.25	$A_2$	$C_2$	$A'_2$	$C'_2$	$V_2 = [(V_1 - 1) C'_1 + C'_0] / C'_2$	$X_2 = C_2 V_2 + C_1$	$\ln X_2$
$t_n$	$A_n$	$C_n$	$A'_n$	$C'_n$	$V_n = [(V_{n-1} - 1) C'_{n-1} + C'_0] / C'_n$	$X_n = C_n V_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i$	$\ln X_n$

### 2.8.3 胆管结扎对肠吸收的影响

考察了药物在中质量浓度 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 条件下, 进行整肠段插管实验, 胆管结扎与不结扎胆管的大鼠的  $K_a$  和吸收率之间无显著性差异 (表 2)。说明胆管结扎对斯皮诺素的肠吸收没有显著性影响, 所以为了避免实验操作上的麻烦以及尽可能减少对大鼠造成伤害而保存与体内相近的生理条件, 以下各因素的考察采用不结扎胆管的方式进行。

表 2 结扎胆管与未结扎胆管的  $K_a$  和吸收率 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

胆管	$K/\text{h}^{-1}$	$P/\%$
结扎	$0.0262 \pm 0.0015$	$9.82 \pm 0.99$
未结扎	$0.0241 \pm 0.0016$	$9.18 \pm 1.23$

### 2.8.4 药物浓度与吸收的关系

考察了药物在 pH 7.2 的条件下, 低、中、高浓度在小肠整肠段插管实验中的吸收情况。结果表明, 3 种不同浓度的  $K_a$  和吸收率之间不存在显著性差异, 说明药物的吸收速率常数和吸收率与浓度无关, 药物吸收量与浓度呈

正比例关系, 随药物浓度的增加而增加, 符合 Fick's 扩散原理, 表明斯皮诺素的小肠吸收主要表现为被动扩散吸收机制。以剩余药量的对数值对回流时间进行回归, 各回归直线的  $r$  值均  $< 0.9000$ , 表明在肠道中药量的下降与循环时间呈线性关系, 故药物吸收为一级动力学 (表 3)。

表 3 药物不同浓度时的  $K_a$  和吸收  $P(\bar{x} \pm s, n = 3)$

$C/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$K_a/\text{h}^{-1}$	$P/\%$
10	$0.0231 \pm 0.0015$	$10.07 \pm 1.37$
20	$0.0241 \pm 0.0016$	$9.18 \pm 1.23$
40	$0.0233 \pm 0.0029$	$9.63 \pm 0.85$

### 2.8.5 介质 pH 对药物吸收的影响

考察了药物在中浓度 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 条件下, 采用不同 pH 进行整肠段插管实验, 斯皮诺素在小肠的吸收情况。结果显示随 pH 增大, 吸收速率常数基本不变, 但吸收百分率有所降低, 方差分析表明, 循环液 pH 对斯皮诺素的肠吸收速率没有显著性影响 (表 4)。

### 2.8.6 药物在肠道各区段的吸收情况

大鼠分肠

表 4 介质不同 pH 时的  $K_a$  和吸收率 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

pH	$K_a/h^{-1}$	吸收率/%
6.5	0.023 5 ± 0.001 5	10.18 ± 0.52
7.2	0.024 1 ± 0.001 6	9.18 ± 1.23
7.8	0.022 1 ± 0.002 6	8.77 ± 0.51

段插管在体肠回流 4 h 后,方差分析表明,十二指肠、空肠、回肠、结肠的吸收速率常数和吸收率有显著性差异,肠循环液中斯皮诺素在肠道各个部位的吸收程度不同,十二指肠段累积吸收药量和吸收率最大,吸收速率常数  $K_a$  在小肠段按十二指肠、空肠、回肠顺序依次下降,在结肠段也有相对较好的吸收。统计学分析结果表明,与空肠和结肠相比,十二指肠段的吸收较快,其  $K_a$  值和累积吸收药量具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (表 5)。

表 5 药物不同肠段的  $K_a$ 、吸收率  $P$  和累积吸收量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

不同肠段	$K_a/h^{-1}$	$P/\%$	累积吸收量/ $\mu\text{g}$
十二指肠	0.026 4 ± 0.001 4	11.77 ± 0.41	130.42 ± 2.87
空肠	0.023 4 ± 0.000 9	10.12 ± 0.47	113.69 ± 2.91
回肠	0.022 6 ± 0.000 9	10.24 ± 0.56	112.23 ± 4.64
结肠	0.026 5 ± 0.000 6	11.11 ± 0.30	113.99 ± 1.14

### 3 讨论

实验过程中,肠道能吸收或排泄水分,导致供试液体积发生改变,故不能用直接测定药物浓度方法计算剩余药量。酚红不易被小肠吸收,因此向供试液中加入定量的酚红,测定不同时间酚红的浓度,可计算出各时间点供试液体积,来校正不同时间点供试液的体积,进而计算出不同时刻的剩余药量。研究药物肠道吸收的生物药剂学方法主要有体内法、在体法和离体法。体内及离体两种方法操作均较为繁琐,难以达到良好的效果。在体法实验中不切断血管与神经,且能避免胃内容物排出及消化管固有运动的生理影响,但循环液的流速较大,会对肠壁造成一定程度的损伤,可能与实际的吸收有区别,但从一定程度上反映药物的吸收情况<sup>[10]</sup>。

口服给药是临床最常用的给药方法,在口服制剂设计和制备之前,应了解药物在胃肠道吸收转运的情况,减少剂型设计的盲目性,为剂型的开发提供科学依据。一般而言,在胃肠道整段或较长部分都能吸收的药物是制备缓、控释制剂的良好候选药物,而有特定吸收部位的药物通常制成胃肠道滞留型定位释药系统,通过延长药物的吸收时间来保证药物的吸收量<sup>[7-9]</sup>,可见药物胃肠吸收动力学研究是其制剂处方前工作的必要环节。

通过在体肠灌注模型,对斯皮诺素在大鼠不同

肠段的吸收动力学研究表明,药物在肠内  $K_a$  较小,吸收较慢(4 h 吸收率仅为 10% 左右)。原因可能是药物水溶性较小,且脂溶性亦较小,故不易透过生物膜所致。同时,十二指肠细胞层很少,管壁最薄,且黏膜面很光滑,受胃酸的影响,十二指肠细胞更新很快,新生细胞的膜通透性较年老细胞好,因此,药物在十二指肠吸收较空肠和回肠好。同时,很多药物口服吸收差的重要原因可能是 ABC 家族的外排转运体造成<sup>[11-13]</sup>,主要的几个外排转运体(P-gp, MRP, BCRP)在肠道中上部的表达量较肠道下部多<sup>[14-15]</sup>,故推测外排机制可能也是斯皮诺素吸收的一个限制因素,外排转运体的显著下降使得结肠对斯皮诺素的外排减少,显示出一定的吸收,但是,这一关于机制的推论还需进一步的研究来证明。

酸枣仁的研究目前比较热门,但较差的生物利用度制约了其应用和发展的前景,而对其的药代动力学研究还比较局限,系统的吸收机制研究未见报道。本研究结果表明,酸枣仁黄酮中主要成分斯皮诺素在胃肠道均有吸收,相对于胃的吸收而言,药物在肠段的吸收较差,这与黄酮类成分存在的口服吸收差,生物利用度低相符。鉴于斯皮诺素在胃肠道内的吸收特点,在对斯皮诺素进行新药开发时,可以考虑通过选择合适的剂型,如制成胃悬浮片、口服速释制剂等,来延长药物在胃及小肠上端内停留的时间,从而改善药物的吸收,提高生物利用度,减少给药剂量。

### [参考文献]

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 3577.
- [2] 吴玉兰, 许惠琴, 陈洗. 酸枣仁不同炮制品及炒酸枣仁中总黄酮与总皂苷的镇静催眠作用比较[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9): 868.
- [3] Fang X S, Hao J F, Zhou H Y, et al. Pharmacological studies on the sedative-hypnotic effect of Semen Ziziphi Spinosae (Suanzaoren) and Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae (Danshen) extracts and the synergistic effect of their combinations[J]. Phytomedicine, 2010, 17(1): 75.
- [4] Li Y J, Bi K S. Study on the therapeutic material basis of traditional Chinese medicinal preparation suanzaoren decoction[J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(6): 847.
- [5] Wang L E, Bai Y J, Shi X R. Spinosin, a C-glycoside flavonoid from Semen Ziziphi Spinozae, potentiated pentobarbital-induced sleep via the serotonergic system [J]. Pharm Biochem Behav, 2008, 90(3): 399.

# 凝胶色谱法测定麦冬多糖 MDG-1 在大鼠胃肠道含量变化

谢华通<sup>1</sup>, 王硕<sup>1</sup>, 阮克峰<sup>1</sup>, 冯怡<sup>1</sup>, 徐德生<sup>2\*</sup>

(1. 上海中医药大学中药现代制剂技术教育部工程中心, 上海 201203;

2. 上海中医药大学曙光医院, 上海 200003)

**[摘要]** 目的:探讨口服麦冬多糖 MDG-1 后在胃肠道内的变化。方法:采用异硫氰酸荧光素(FITC)对麦冬多糖 MDG-1 进行标记,测定取代度。采用荧光凝胶色谱法(HPGPC)对消化道内含量进行测定。胃内含量变化测定:SD 雄性大鼠随机分成 6 组,其中 5 组分别口服给予不同剂量 F-MDG-1,空白组给予水,在 1 h 时测定含量;另取 SD 雄性大鼠随机分成 6 组,其中 5 组分别经口给予相同剂量 F-MDG-1,空白组给予水,分别在 0,1,2,4 h 时测定含量。小肠道内含量测定:SD-雄性大鼠分成 4 组,空白组 1 组及给药组 3 组,经胃幽门部注射给药后立即分别结扎胃幽门部及小肠末端,空白组给予水适量,给药组给予 F-MDG-1 溶液适量,分别在 1,2,4 h 测定内容物内 F-MDG-1 含量。大肠内含量测定:SD-雄性大鼠分成 4 组,空白组 1 组及给药组 3 组,每组 6 只,给药方法:经小肠末端部注射给药后立即分别结扎小肠末端及大肠末端近肛门部。空白组给予水适量,给药组给予 F-MDG-1 溶液适量,分别在 1,2,4 h 测定大肠内容物内 F-MDG-1 含量。结果:给予相同剂量的 F-MDG-1,随着药物在胃内滞留时间的延长,其浓度下降。而在给予不同浓度 F-MDG-1 后,在 1 h 时测得浓度占给药量的百分比随着给药剂量的增加而增加;但将 pH 调 7.2 后,其含量未变化。分别单次给予小肠、大肠 F-MDG-1 后,随着药物在肠道内滞留时间的延长,其含量逐渐降低。结论:采用 FITC 对 MDG-1 进行标记,并采用荧光色谱法对 MDG-1 在胃肠道内含量变化进行研究是可行的。MDG-1 在胃内不分解,其主要代谢部位在肠道,其原因可能是肠道内环境及细菌共同作用的结果。

**[关键词]** 麦冬多糖; MDG-1; 异硫氰酸荧光素; 凝胶色谱法; 胃肠道

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0139-07

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1203.011.html>

**[网络出版时间]** 2012-05-04 12:03

**[收稿日期]** 20120219(010)

**[第一作者]** 谢华通,博士,从事中药大分子组分生物活性研究, Tel:021-58950297-801, E-mail: xiehuatong@schu.com

**[通讯作者]** \* 徐德生, Tel:021-53825761, E-mail: xudes1953@126.com

- [6] Li Y J, Yao M C, Cheng S. Quantitative determination of spinosin in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 48(4):1169.
- [7] 姜宇,何群,赵碧清,等. 秦皮甲素大鼠肠吸收动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):110.
- [8] 陆慧,贾晓斌,韦英杰,等. 灵芝三萜表观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.
- [9] 玉凤,戴岳,孟庆玉,等. 东莨菪素大鼠在体胃、小肠吸收动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(15): 1890.
- [10] Zhao Y H, Abraham M H, Le J, et al. Evaluation of rat intestinal absorption data and correlation with human intestinal absorption [J]. Eur J Med Chem, 2003, 38(3): 233.
- [11] Varma M V, Perumal O P, Panchagnula R. Functional role of P-glycoprotein in limiting peroral drug absorption: optimizing drug delivery [J]. Curr Opin Chem Biol, 2006, 10(4): 367.
- [12] Morris M E, Zhang S. Flavonoid-drug interactions: effects of flavonoids on ABC transporters[J]. Life Sci, 2006, 78(18): 2116.
- [13] 王亚之,欧喜笑,郑颖. 外排转运体和代谢酶与黄酮的相互作用及其对黄酮肠吸收影响的研究进展[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1659.
- [14] Ingolf Cascorbi. Role of pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters in the pharmacokinetics of drugs [J]. Pharmacol Ther, 2006, 112(2): 457.
- [15] Seithel A, Karlsson J, Hilgendorf C, et al. Variability in mRNA expression of ABC-and SLC-transporters in human intestinal cells: comparison between human segments and Caco-2 cells[J]. Eur J Pharm Sci, 2006, 28(4): 291.

[责任编辑 邹晓翠]