

## 紫草素微乳改善大鼠小肠吸收的研究

刘恒戈<sup>1</sup>, 苏红<sup>2</sup>, 王新春<sup>2,3\*</sup>, 郭新红<sup>2</sup>, 黄川生<sup>3</sup>

(1. 新疆医科大学附属肿瘤医院, 乌鲁木齐 830011; 2. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002;  
3. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832008)

**[摘要]** **目的:**研究紫草素微乳(Skn-ME)对紫草素(Skn)实验性小肠吸收的改善作用。**方法:**采用大鼠单向灌流模型和离体外翻肠囊模型,紫外分光光度法测定肠灌流液中紫草素的浓度变化,研究紫草素微乳在大鼠小肠的吸收部位和吸收动力学特征。**结果:**大鼠在体小肠吸收实验中,紫草素微乳可被大鼠全肠段吸收,在十二指肠、空肠回肠及结肠各肠段的药物吸收速率常数( $K_a$ )分别是 0.213 4, 0.221 8, 0.217 6, 0.221 1  $\text{min}^{-1}$ ; 药物表观吸收系数( $P_{app}$ )分别是 0.035 69, 0.036 37, 0.036 32, 0.037 27  $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$ , 结肠段吸收最好 ( $P < 0.001$ )。在 15 ~ 60  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  内,紫草素微乳在小肠的  $K_a$  不具有显著性差异。离体小肠吸收实验中,紫草素微乳吸收量和吸收率较紫草素提高 106.1%, 肠壁通透性增加 123.02%。在 15 ~ 60  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  内,吸收符合 Fick's 扩散定律,表现出一级动力学过程。**结论:**紫草素微乳通过提高肠壁通透性一定程度地改善其吸收,在小肠的吸收主要以被动扩散方式吸收。

**[关键词]** 紫草素; 微乳; 单向灌流; 外翻肠囊法

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0129-04

## Enhanced Absorption of Shikonin Microemulsion into Small Intestine in Rats

LIU Heng-ge<sup>1</sup>, SU Hong<sup>2</sup>, WANG Xin-chun<sup>2,3\*</sup>, GUO Xin-hong<sup>2</sup>, HUANG Chuan-sheng<sup>3</sup>

(1. Affiliated Tumor Hospital Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. School of Pharmacy Shihezi University, Shihezi 832000, China;

3. The First Affiliated Hospital of Medical College Shihezi University, Shihezi 832008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate whether the absorption of shikonin can be enhanced by using shikonin microemulsion. **Method:** The uptake and intestinal permeability of shikonin and shikonin microemulsion were observed by using single-pass intestinal perfusion model and reverted gut sac method. **Result:** The shikonin microemulsion could be absorbed in whole intestinal segments. The absorption rate constants ( $K_a$ ) of shikonin microemulsion at duodenum, jejunum, ileum and colon was 0.213 4, 0.221 8, 0.217 6, 0.221 1  $\text{min}^{-1}$ , respectively; the apparent permeability coefficients ( $P_{app}$ ) of was 0.035 69, 0.036 37, 0.036 32, 0.037 27  $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$ .  $K_a$  and  $P_{app}$  at colon were significantly higher than that at the other regions of intestine ( $P < 0.001$ ).  $K_a$  of shikonin microemulsion in intestine had no significant difference in the range of 15-60  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The uptake and absorption rate of shikonin microemulsion increased with 106.1%; the permeability coefficient with 123.02%. The absorption process obeyed the Fick's law in the range of 15-60  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . **Conclusion:** The absorption shikonin microemulsion is enhanced by increasing the permeability through a passive mechanism.

**[Key words]** shikonin; microemulsion; single-pass intestinal perfusion model; reverted gut sac method

紫草素(shikonin)是从传统中药紫草的根部提取的一种萘醌类化合物,具有较强的抗炎、抗肿瘤作

用<sup>[1-2]</sup>,研究表明,紫草素能有效诱导人大肠癌细胞发生程序性细胞死亡(细胞凋亡),对人胃癌细胞、

**[收稿日期]** 20110706(011)

**[基金项目]** 石河子大学科学技术研究发展计划-高层次人才科研启动资金专项(RCZX-2007-79);国家自然科学基金项目(30960528)

**[通讯作者]** \*王新春,博士,硕士生导师,从事中药民族药新制剂与新剂型研究, Tel:0993-2855827, E-mail:cwjwxc@163.com

人食道癌细胞和宫颈癌细胞等多种肿瘤具有明显的抑制作用<sup>[3-4]</sup>,具有较高的研发价值。本研究在前期紫草素微乳制备工艺研究基础上<sup>[5]</sup>,采用大鼠单向灌流模型和离体外翻肠囊模型进行紫草素微乳在体、离体大鼠小肠吸收的特点,与紫草素原料药进行了比较,以期紫草素新剂型的研制提供更多的思路。

## 1 材料

**1.1 仪器** UV-2401PC 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),HH-S11-Z 型电热恒温水浴锅(北京长安科学仪器厂);TDL-S 台式离心机(上海安亭仪器厂制造),TG16B 型台式高速离心机(中国湖南长沙凯达科学仪器有限公司),T01-100 蠕动泵驱动器(保定兰格恒流泵有限公司),电子分析天平(奥豪斯国际贸易有限公司)。

**1.2 试剂及试药** 紫草素(中国药品生物制品检定所,批号 0769-9903);戊巴比妥钠(上海行知化工厂);Krebs-Ringe 营养液(以下简称 K-R 缓冲液,自配,每 1 000 mL 含 NaCl 7.8 g, KCl 0.35 g, CaCl<sub>2</sub> 0.37 g, NaHCO<sub>3</sub> 1.37 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.32 g, MgCl<sub>2</sub> 0.02 g, 葡萄糖 1.4 g);紫草素供试液(K-R 缓冲液溶解稀释配制);紫草素微乳供试液(取适量自制 1 g·L<sup>-1</sup>紫草素微乳,用 K-R 营养液溶解、定容,即得);空白肠循环液(K-R 缓冲液进行大鼠小肠循环灌注 2 h,即得);其余试剂均为分析纯。

**1.3 动物** Wistar 大鼠,雄性,体重(200 ± 50)g,清洁 II 级,购自新疆医科大学实验动物中心提供,合格证号新医动字第 2003-0001 号。

## 2 方法和结果

**2.1 肠循环液中紫草素含量测定方法的建立**<sup>[6-7]</sup>

**2.1.1 检测波长的选择** 精密移取 Skn-ME 供试液、空白微乳供试液溶液适量,空白肠循环液,于波长 200 ~ 800 nm 范围扫描,结果,紫草素在 518 nm 有最大吸收,空白微乳、肠循环液对紫草素测定无干扰。

**2.1.2 标准曲线的制备** 取 Skn-ME 浓缩液(紫草素质量浓度为 1 g·L<sup>-1</sup>) 1 mL,用 K-R 营养液定容至 10 mL,得 100 mg·L<sup>-1</sup>的储备液。分别精密吸取储备液于 10 mL 量瓶内,用 K-R 缓冲液稀释并定容至刻度,得质量浓度依次为 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40 mg·L<sup>-1</sup>的标准溶液。于 518 nm 处测定吸收度(A),以吸收度 A 对紫草素质量浓度 C(mg·L<sup>-1</sup>)进行线性回归,得标准曲线方程为  $A = 0.0182C + 0.0975$ ,  $R = 0.9998$ 。紫草素微乳溶液质量浓度在

5.0 ~ 40.0 mg·L<sup>-1</sup>,线性关系良好。

**2.1.3 药物浓度的测定** 取肠循环液 1 mL,用 K-R 营养液定容至 10 mL,在 518 nm 测定 A,由标准曲线方程求得紫草素浓度。

## 2.2 大鼠在体单向肠灌流实验

**2.2.1 模型** 取禁食 12 h 大鼠,戊巴比妥钠(40 mg·kg<sup>-1</sup>)麻醉,沿腹中线打开腹腔,暴露待考察肠段。用 37 °C 生理盐水冲洗肠段内容物,至干净,插入塑料管并结扎固定。取供试液以 0.5 mL·min<sup>-1</sup>流速泵入肠段,使肠段内充满供试液,后将流速调至 0.25 mL·min<sup>-1</sup>同时开始计时,约 0.5 h 后,吸收达到稳定状态。进口处用已知质量装有供试液的小瓶进行灌流,每隔 15 min 在出口处用另一已知质量的小瓶收集 1 次,称质量,计算灌入和收集的供试液质量。于出口处收集流出灌流液直到 105 min。实验结束时,将所灌流的肠段剪下,测量其长度和内径。所取样品置于 1.5 mL 离心管中,以 3 000 r·min<sup>-1</sup>速度离心 15 min 后,紫外分光光度法测定。

**2.2.2 小肠吸收部位实验** 将 30 mg·L<sup>-1</sup>Skn-ME 和 Skn 供试液各 50 mL,按 2.2.1 项下方法进行实验,分别考察各供试样品在十二指肠、空肠、回肠、结肠组各区段吸收情况。按下式计算药物不同肠段的  $K_a$  和  $P_{app}$ ,进行比较。结果,紫草素微乳在整个肠段均有吸收,在结肠处的  $K_a$  高于其他肠段,差异具有显著性( $P < 0.05$ ),各肠段  $K_a$  和  $P_{app}$  的大小顺序是结肠 > 空肠 > 回肠 > 十二指肠。Skn-ME 在各肠段的  $K_a$  均高于 Skn 原形药物(表 1)。

$$K_a = \left(1 - \frac{C_{out} Q_{out}}{C_{in} Q_{in}}\right) \frac{Q}{V}$$

$$P_{app} = -Q \ln\left(\frac{C_{out} Q_{out}}{C_{in} Q_{in}}\right) / 2\pi r l$$

式中  $Q_{in}$  和  $Q_{out}$  分别为肠道进出口灌流液的体积(mL); $C_{in}$  和  $C_{out}$  分别为肠道进出口灌流液的浓度(mg·L<sup>-1</sup>); $l$  和  $r$  分别为被灌流肠段的长度(cm)和横截面半径(cm); $Q$  为灌流速度(0.25 mL·min<sup>-1</sup>); $V$  为灌流肠段的容积; $K_a$  和  $P_{app}$  为最后 5 个时间段(45 ~ 105 min)样品的平均值。

**2.2.3 不同浓度紫草素微乳吸收实验** 分别取 15.0, 30.0, 60.0 mg·L<sup>-1</sup>紫草素微乳供试液,以空肠段为灌流部位,考察药物不同质量浓度对肠吸收的影响。结果,药物质量浓度在考察范围内对  $K_a$  和  $P_{app}$  无显著性影响,说明药物在空肠段的吸收不受自身质量浓度影响,提示紫草素微乳在大鼠小肠的吸收机制为被动扩散。紫草素微乳在各质量浓度下的

表1 紫草素、紫草素微乳在大鼠不同肠段的  $Ka$  和  $P_{app}$  ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

肠段	紫草素		紫草素微乳	
	$P_{app} \times 10^{-2} / \text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$Ka \times 10^{-1} / \text{min}^{-1}$	$P_{app} \times 10^{-2} / \text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$Ka \times 10^{-1} / \text{min}^{-1}$
十二指肠	1.235 8 ± 0.407 9	0.985 7 ± 0.026 7	3.568 7 ± 0.024 4	2.133 7 ± 0.157 9
空肠	1.275 5 ± 0.030 5	1.121 1 ± 0.010 5	3.636 6 ± 0.061 2	2.217 6 ± 0.133 2
回肠	1.160 6 ± 0.612 7	0.938 3 ± 0.042 8	3.631 9 ± 0.023 4	2.175 9 ± 0.132 7
结肠	1.372 4 ± 0.613 9	1.123 1 ± 0.042 3	3.726 7 ± 0.045 3	2.210 9 ± 0.188 6

$Ka$  均高于原形药物,说明微乳作为载体对紫草素在小肠的吸收有显著的促进作用(表2)。

表2 紫草素及紫草素微乳不同质量浓度的  $Ka$  和  $P_{app}$  ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	紫草素		紫草素微乳	
	$P_{app} \times 10^{-2} / \text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$Ka \times 10^{-1} / \text{min}^{-1}$	$P_{app} \times 10^{-2} / \text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$Ka \times 10^{-1} / \text{min}^{-1}$
15	1.275 5 ± 0.021 6	1.121 1 ± 0.007 4	3.636 6 ± 0.061 2	2.217 6 ± 0.133 2
30	1.213 5 ± 0.034 8	0.998 9 ± 0.003 3	3.659 4 ± 0.059 2	2.294 0 ± 0.133 6
60	1.0770 ± 0.2049	0.8696 ± 0.1484	3.5151 ± 0.0439	2.1818 ± 0.0419

### 2.3 大鼠外翻肠囊试验

**2.3.1 实验模型** 取禁食 12 h 的大鼠,戊巴比妥钠( $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )麻醉,开腹取 4 cm 左右空肠段,去除系膜,立即放入冷的 K-R 液中洗去血污,用手指轻柔地将肠管翻转使黏膜面朝外,结扎一端,然后用注射器向肠内注入约 2 mL K-R 液,用丝线扎住另一端,制得肠囊,分别迅速置入 3 个通有混合氧气的含供试液 30 mL 大试管中,全管放入 37 °C 恒温水浴中,待稳定后,分别于 0, 15, 45, 75 min 取样,3 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,紫外分光光度法测定。分别按下式计算各肠段药物的吸收。

$$\text{吸收量} = X_1 - X_2$$

$$\text{吸收率} = (X_1 - X_2) / X_1 \times 100\%$$

肠壁通透系数<sup>[6]</sup>;  $X_1$  为初始药量,  $X_2$  为终末药量,  $V$  为循环液体积,  $L$  为肠段长度,  $t$  为循环时间。

**2.3.2 紫草素溶液与紫草素微乳小肠吸收的比较** 按 2.3.1 方法造模后,小肠囊外分别给予 30.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的紫草素溶液及紫草素微乳溶液,75 min 后,测定囊外药液的终末药量  $X_2$ 。结果,紫草素微乳离体小肠吸收量和吸收率分别比紫草素溶液提高 106.1%,肠壁通透性增加 123.02% (表 3)。

表3 紫草素和紫草素微乳大鼠外翻肠囊吸收的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

样品	质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	吸收量 / $\mu\text{g}$	吸收率 / $\%$	$Ke$ / $\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$
紫草素	30	5.90 ± 0.203	19.67 ± 1.43	0.0291
紫草素微乳	30	12.16 ± 0.183	40.54 ± 3.01	0.0649

**2.3.3 不同浓度紫草素微乳的吸收** 按 2.3.1 方

法造模后,小肠囊外分别给予 15.0, 30.0, 60.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  紫草素微乳溶液,考察药物浓度与吸收量、吸收率及吸收速率常数的关系。结果,药物吸收量随浓度升高呈上升趋势,而药物吸收率和肠壁通透性变化不大(表 4)。紫草素微乳在此浓度范围内的大鼠肠吸收为一级动力学过程,其吸收机制主要为被动扩散。其吸收机制与紫草素对比未发生变化,均为被动扩散。

表4 不同浓度紫草素微乳在不同时间的吸收及肠壁通透性 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	吸收量 / $\mu\text{g}$	吸收率 / $\%$	$Ke$ / $\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$
15	5.742 ± 0.213	38.28 ± 2.54	0.064 3
30	12.161 ± 0.183	40.54 ± 3.01	0.064 9
60	23.132 ± 0.648	38.55 ± 2.83	0.069 3

### 3 讨论

本实验依据在体单向灌流法和离体肠囊外翻法的特点,在前期研究基础上<sup>[8-9]</sup>,采用 2 种模型分别对紫草素微乳的肠吸收进行了研究,实验结果为微乳作为紫草素载体的可行性提供了依据。

在体单向灌流实验结果表明,微乳剂型可明显改善紫草素的实验性肠吸收。药物在整个肠段都有吸收,结肠吸收最好。紫草素微乳在各肠段的  $Ka$  均高于原形药物,差异具有显著性 ( $P < 0.05$ );紫草素微乳在各质量浓度下的  $Ka$  均高于原形药物。外翻肠囊实验结果表明,紫草素微乳较紫草素的吸收量和吸收率提高 106.1%,肠壁通透性增加 123.02%。因

## 杞元膏加味对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响

吕建东, 白素芬, 张晓鹏, 刘瑞丰, 张晶, 马燕, 喇万英\*

(河北联合大学, 河北 唐山 063000)

**[摘要]** 目的: 观察杞元膏加味对 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂的影响。方法: Wistar 雄性大鼠 70 只, 随机抽取 10 只作为正常对照组(生理盐水), 其余以高糖高脂饲料诱导加链脲佐菌素(STZ)  $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip 建立 2 型糖尿病模型, 7 d 后选取成模大鼠 50 只, 按血糖高低分为模型对照组(生理盐水)、药物对照组(盐酸二甲双胍  $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、杞元膏加味组(低、中、高剂量组以生药计分别为  $2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 每组 10 只。连续 ig 给药 3 周后, 观察各组大鼠血糖、血脂、血清胰岛素等变化。结果: 空腹血糖杞元膏加味低、中、高剂量组由模型组 ( $22.00 \pm 1.30$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  降为 ( $16.00 \pm 1.22$ ), ( $14.63 \pm 1.30$ ), ( $13.25 \pm 1.28$ )  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ); 血清胰岛素杞元膏加味低、中、高剂量组由模型组 ( $11.86 \pm 0.79$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  升为 ( $16.17 \pm 0.99$ ), ( $18.11 \pm 0.75$ ), ( $19.07 \pm 0.77$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ); 杞元膏加味低、中、高剂量组均能降低大鼠甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C) ( $P < 0.05$ ), 升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) ( $P < 0.05$ )。结论: 杞元膏加味对糖尿病大鼠有降低血糖, 改善血脂, 升高血清胰岛素的作用。

**[关键词]** 杞元膏加味; 2 型糖尿病大鼠; 血糖; 血脂; 血清胰岛素

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0132-04

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20111226.1611.005 **[网络出版时间]** 2011-12-26 16:11

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20111226.1611.005.html>

**[收稿日期]** 20110704(002)

**[基金项目]** 国家科技部国际合作项目(2008DFA31050)

**[第一作者]** 吕建东, 在读硕士研究生, 从事中医药治疗代谢性疾病研究, Tel: 15833251354, E-mail: 382524676@qq.com

**[通讯作者]** \* 喇万英, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 从事中医药治疗代谢性疾病研究, Tel: 13832873908, E-mail: LWY1948@163.com

此, 2 个模型的实验结果均说明微乳作为紫草素的载体对其在小肠的吸收有显著的促进作用。

药物质量浓度在考察范围内, 对  $K_a$  和  $P_{app}$  无显著性影响, 符合 Fick's 扩散定律, 表明紫草素微乳主要以被动扩散的方式吸收, 表现出一级动力学过程。

### [参考文献]

- [1] Singh B, Sharma M K, Meghwal P R, et al. Anti-inflammatory activity of shikonin derivatives from *arnebha hispidissima* [J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(5): 375.
- [2] 蒋英丽. 新疆紫草素诱导人大肠癌细胞的凋亡[J]. *癌症*, 2001, 20(12): 1355.
- [3] Min R, Tong J, Wenjun Y, et al. Growth inhibition and induction of apoptosis in human oral squamous cell carcinoma Tca-8113 cell lines by Shikonin was partly

through the inactivation of NF-kappa B pathway [J]. *Phytother Res*, 2008, 22(3): 407.

- [4] 吴振, 吴立军, 田代真一, 等. 紫草素诱导 HeLa 细胞凋亡经过 caspase 激活的机制[J]. *中国药理学通报*, 2004, 20(5): 540.
- [5] 连文元, 李悦, 王新春, 等. 微乳对左旋紫草素增溶作用的实验研究[J]. *中成药*, 2010, 32(5): 879.
- [6] 袁泉, 李馨儒, 王会娟, 等. 水飞蓟素微乳大鼠在体小肠吸收的动力学[J]. *药学学报*, 2004, 39(8): 631.
- [7] 唐晓养, 杨祥良. 灯盏花素磷脂复合物改善大鼠小肠吸收的研究[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(3): 222.
- [8] 苏红, 黄川生, 陈文, 等. 单向灌流法研究紫草素的大鼠在体肠吸收[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4): 190.
- [9] 王新春, 邢建国, 王忠, 等. 紫草素微乳剂组合物[P]. 专利号: ZL200910113220.4.

[责任编辑 聂淑琴]