丹皮酚大鼠在体小肠吸收动力学研究

汤继辉[1], 胡容峰[1*], 常 宫[2]
(1. 安徽中医学院药学院, 安徽 合肥 230038; 2. 安徽省现代中药研究中心, 安徽 合肥 230038)

[摘要] **目的**: 研究丹皮酚在大鼠各肠段的吸收动力学特征, 为设计丹皮酚新型给药系统提供可靠的生物药剂学依据。**方法**: 应用大鼠在体小肠吸收实验法。**结果**: 丹皮酚在肠道各部位的吸收速率按空肠、回肠、十二指肠、结肠顺序下降, 药物在肠道内的吸收呈现一级吸收动力学过程, 其吸收机制为被动扩散。**结论**: 丹皮酚适宜设计成为缓释制剂。

[关键词] 丹皮酚; 吸收动力学; 在体小肠吸收

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)07-0035-03

Studies on the Absorption Kinetics of Paeonol in Rat's Intestines

TANG Ji-hui[1], *HU Rong-feng*[1*], *CHANG Gong*[2]
(1. *Department of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei* 230038, *China*;
2. *Anhui Provincial Center for Advanced Chinese Medicine, Hefei* 230038, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To explore the absorption mechanism of Paeonol from various intestinal segments and offer biophamaceutics data for Paeonol new dosage form. **Method**: The absorption kinetics and permeability rate constants were investigated by the in situ perfusing method in rats. **Result**: The absorption rate in rats was descend as the order of jejunum, ileum, duodenum and colon. The absorption of the drug conforms to the first-order kinetics and passive transport machanism. **Conclusion**: The results indicate that Paeonol can be formulated and prepared as sustained release dosage form.

[**Key words**] Paeonol; Absorption Kinetics; In the small intestines absorption

丹皮酚(Paeonol)是常用中药徐长卿(*Cynanchum paniculatum*(Bge.) Kitag.), 牡丹皮(*Paenia suffruticosa* Andr)等中药的主要挥发性成分之一, 具有镇痛、镇静、催眠、抗炎、解热、抗过敏、增强免疫功能等作用。目前丹皮酚及其复方制剂, 已在临床上广泛应用。因此, 探明该药物在肠道各区段的吸收特征对于进一步设计丹皮酚新型的定时、定速、定位给药系统具有十分重要的意义。

本文采用大鼠在体小肠吸收实验方法, 对丹皮酚的吸收部位和吸收动力学进行研究, 目的在于为制剂的设计提供可靠的生物药剂学依据。

[收稿日期] 2005-07-20
[通讯作者] 胡容峰, Tel: (0551) 5169060; E-mail: hurongfeng@163.com

1 材料

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); HL-1 恒流泵(上海青浦沪西仪器厂); 可控硅恒温水浴锅(上海锦屏仪器仪表有限公司); 水合氯醛(中国医药集团上海化学试剂公司); 丹皮酚(茂名市汇润化工有限公司; 来源于植物牡丹皮, 纯度 UV99%, 批号 HL-04025); 其它试剂均为分析醇; 雄性 SD 大鼠 250 ±20g(本校动物室提供, 普通级, 河南省医动字第 02001 号)。

2 实验方法

2.1 肠循环液中酚红的含量测定[1] 酚红不被小肠吸收, 在样品溶液中加入酚红可用来测定小肠吸收的水份量, 以准确计算小肠吸收的药物量。利用酚红溶于碱液中在 558nm 左右有最大吸收的特点, 用紫外分光光度计可以对酚红定量。

酚红的标准曲线绘制: 精密称取酚红 10mg, 置 100mL 容量瓶中, 加 Kreb Ringer's 营养液(简称 K 氏液) 溶解并稀释至刻度, 制成 100μg/mL 储备液。吸取 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8mL 的储备液于 10mL 容量瓶中加 0.2mol/L NaOH 溶液至刻度, 以 0.2mol/L NaOH 溶液为空白, 558nm 测定吸收度, 以吸收度 A 与丹皮酚浓度 C(μg/mL) 进行线性回归。

2.2 肠循环液中丹皮酚的含量测定[2] 丹皮酚溶液在 276nm 左右有紫外吸收, 因此, 可利用这一性质进行丹皮酚的定量测定。但酚红溶于 K 氏液在 276nm 左右也有吸收, 干扰酚红的测定, 本实验采用氯仿萃取后进行测定的方法。

丹皮酚标准曲线的绘制: 精密称取丹皮酚 10mg, 以氯仿定容至 100mL, 制成 100μg/mL 储备液。吸取 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8mL 的储备液于 10mL 容量瓶中加氯仿至刻度, 以氯仿为空白, 276nm 测定吸收度, 以吸收度 A 与丹皮酚浓度 C(μg/mL) 进行线性回归。

2.3 大鼠在体肠吸收实验方法[1,3] 取禁食 12h(自由饮水) 的 250g 左右雄性大鼠, 腹腔注射水合氯醛溶液(3.3mg/100g), 麻醉后固定在手术台板上。沿腹中线剪开腹部, 结扎胆总管, 在需考察部位量 5cm 长的小段, 两端剪开小口, 插管, 结扎, 如图 1 连接循环装置。以 5mL/min 流速用 37℃生理盐水冲洗 10min 后, 换成 37℃ 50mL 供试液以 5mL/min 流速循环 10min, 记为 0 时, 之后改为 2.5mL/min 的流速循环并记时。分别于循环 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50h 取样 5mL 经 0.45μm 的微孔滤膜过滤(1mL 用于酚红含量测定, 1mL 用于丹皮酚含量测定), 同时补加酚红 K 氏液(含酚红 2mg/100mL) 5mL。

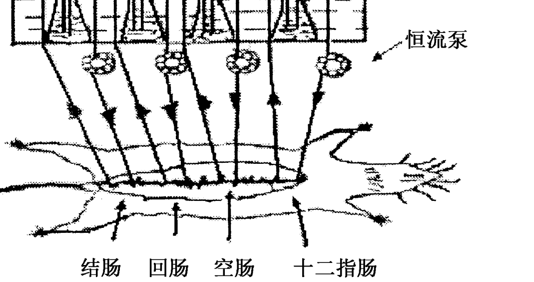

图 1 大鼠在体肠循环装置图

2.4 各部位的药物剩余量计算方法(见表 1)。

表 1 大鼠在体小肠吸收量的计算式

取样时间 (h)	丹皮酚 吸收度	丹皮酚 浓度 (μg/mL)	酚红 吸收度	酚红 浓度 (μg/mL)	供试液体积 (mL)	剩余药量 (μg)
Pre	A_0	C_0	A'_0	C'_0	$V_0 = 50$	$P_0 = 50 \times C_0$
0.00	A_1	C_1	A'_1	C'_1	$V_1 = C'_0 V_0 / C'_1$	$P_1 = C_1 \times V_1$
0.25	A_2	C_2	A'_2	C'_2	$V_2 = ((V_1 - 5) C'_1 + 100) / C'_2$	$P_2 = C_2 \times V_2 + 5C_1$
0.50	A_3	C_3	A'_3	C'_3	$V_3 = ((V_2 - 5) C'_2 + 100) / C'_3$	$P_3 = C_3 \times V_3 + 5(C_1 + C_2)$
t_n	A_n	C_n	A'_n	C'_n	$V_n = ((V_{n-1} - 5) C'_{n-1} + 100) / C'_n$	$P_n = C_n \times V_n + 5\sum_{i=1}^{n-1} C_i$

3 实验结果

3.1 按 2.1 方法, 得酚红标准曲线 $A = 0.1563C + 0.0189$, $r = 0.9997$ ($n = 7$)。

3.2 按 2.2 方法, 得丹皮酚标准曲线 $A = 0.0913C + 0.013$, $r = 0.9997$ ($n = 7$)。

3.3 各部位的吸收速率常数 按 2, 4 计算公式先算出各肠段取样时点的剩余药量, 然后以剩余药量的对数对时间回归作图, 求出直线斜率, 以直线斜率的绝对值除以实际测量的小肠长度, 即得吸收速率常数 Ka($cm^{-1} \times h^{-1}$), 结果见表 2。

表 2 各肠段吸收速率常数($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

十二指肠 Ka($cm^{-1} \times h^{-1}$)	空肠 Ka($cm^{-1} \times h^{-1}$)	回肠 Ka($cm^{-1} \times h^{-1}$)	结肠 Ka($cm^{-1} \times h^{-1}$)
0.0391 ±0.0024	0.0586 ±0.0062	0.0528 ±0.0022	0.0039 ±0.0019

由表 2 可以看出, 丹皮酚大鼠小肠吸收速率大小顺序为: 空肠 > 回肠 > 十二指肠 > 结肠。对数据进行方差齐性检验及两两组间 t 检验结果(结肠组与十二指肠组比较, $t = 14.4921$, $P < 0.001$) 可知, 结肠的吸收速率相对前三者有显著性差异, 因此认为丹皮酚在结肠不吸收或吸收速率很小。

各肠段剩余药量的对数对时间回归的相关系数均在 0.995 左右, 表明药物浓度的下降与循环时间呈线性关系, 故吸收动力学为一级吸收。

3.4 各部位每 h 的吸收百分率(表 3)

每 h 吸收百分率=

$$\frac{\text{0h 剩余药物量} - \text{1.5h 剩余药物量}}{\text{0h 剩余药物量} \times 1.5} \times 100\%$$

表 3 各肠段吸收百分率($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

十二指肠	空肠	回肠	结肠
30.58 ±3.75	43.96 ±6.87	36.67 ±4.44	4.02 ±2.13

由表 3 可初步估计丹皮酚的吸收半衰期为 1~2h, 这与文献[4]报道基本一致。

3.5 不同浓度下的药物摄取量与吸收速率常数

采用不同浓度的丹皮酚循环后, 按 3.1 计算方法, 药物吸收量和 Ka 值, 结果见表 4。

表 4 不同浓度下的药物摄取量与吸收速率常数($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

丹皮酚浓度 (μg/mL)	丹皮酚吸收量 (μg)	吸收速率常数 Ka($cm^{-1} \times h^{-1}$)
30	1788 ±244	0.0628 ±0.0069
40	2411 ±385	0.0612 ±0.0065
50	3006 ±398	0.0593 ±0.0060
60	3612 ±435	0.0604 ±0.0064

由表 4 可知, 丹皮酚的吸收量随药物浓度的增大而增大, 但吸收速率却基本不变, 说明丹皮酚的吸收方式为被动扩散。

4 讨论

由于酚红溶液在 276nm 也有吸收, 且大鼠肠道分泌液成分复杂, 直接用紫外分光光度计无法测定, 而用高效液相法成本较高, 因此, 本实验中利用氯仿从溶液中将丹皮酚萃取出直接用紫外分光光度计测定。丹皮酚的吸收量随药物浓度的增大而增大, 但吸收速率却基本不变, 说明丹皮酚的吸收方式为被动扩散。

通过大鼠在体小肠吸收实验, 可以为制剂提供可靠的生物药剂学数据。如果药物主要在胃肠道上中部吸收, 制剂时主要考虑延长药物在胃肠道上中部滞留时间; 如果药物主要在上中部吸收, 但在下部仍有吸收, 处方设计时主要考虑减慢药物的胃肠道推进、促进下段对药物的吸收; 如果药物在全程都有良好吸收, 主要考虑使药物均匀释放即可。本实验结果表明, 丹皮酚在大鼠小肠全长都有良好吸收, 结肠部位吸收速率很小, 丹皮酚的吸收半衰期为 1~2h, 因此, 可以考虑将丹皮酚设计成为缓释制剂用药。

[参考文献]

[1] 张莉, 陈大为, 李芳久, 等. 法莫替丁大鼠在体小肠吸收动力学研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(3): 170-172.

[2] 程荷珍, 王桂红, 王萍. 六味地黄丸(浓缩丸)溶出度的测定[J]. 中成药, 2001, 23(5): 380-381.

[3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 699-791.

[4] 汪宝琪, 庞志功, 张清. 牡丹皮徐长卿中丹皮酚吸收代谢的对比研究[J]. 西安医科大学学报, 1995, 16(1): 53-55.