

α -常春藤皂苷大鼠在体肠吸收特性研究

何明珍^{1,2,3}, 梁起栋², 欧阳辉², 饶小勇^{2,3}, 苏丹², 孙勇兵², 冯育林^{2,3*}, 杨世林^{1,2,3}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

3. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 考察 α -常春藤皂苷的肠道吸收特性, 探讨 α -常春藤皂苷生物利用度低的原因。方法 采用大鼠在体肠单向灌注模型、运用 HPLC 法测定药物的质量浓度, 分别研究吸收部位、药物质量浓度、pH 值、肠道菌群以及 P-糖蛋白 (P-gp) 抑制剂对 α -常春藤皂苷吸收的影响。结果 α -常春藤皂苷在不同肠段的吸收速率常数 (K_a) 顺序为回肠>结肠>空肠>十二指肠; 且以质量浓度为 75、150、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的供试液进行实验, K_a 和 P_{eff} 没有显著性差异; 药物的吸收随 pH 值升高而增加; 扰乱大鼠肠道菌群会干扰 α -常春藤皂苷的吸收; 含 P-gp 抑制剂组和不含 P-gp 抑制剂组相比, α -常春藤皂苷的 K_a 和 P_{eff} 值均无显著性差异。结论 α -常春藤皂苷在全肠道均有吸收, 但在肠道下部吸收较好; 在实验质量浓度范围内, 药物的吸收无浓度饱和现象, 吸收机制为被动扩散; 药物在碱性环境下吸收较好; 肠道菌群对 α -常春藤皂苷吸收有显著影响; α -常春藤皂苷不是 P-gp 底物。
关键词: α -常春藤皂苷; 单向灌注法; 在体肠吸收; 肠道菌群; 被动扩散

中图分类号: R285.61 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)06-0807-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.06.013

In vivo intestinal absorption characteristics of α -hederin in rats

HE Ming-zhen^{1,2,3}, LIANG Qi-dong², OUYANG Hui², RAO Xiao-yong^{2,3}, SU Dan², SUN Yong-bing², FENG Yu-lin^{2,3}, YANG Shi-lin^{1,2,3}

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Materia Medica, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To investigate the intestinal absorption characteristics of α -hederin and to explore the causes of poor bioavailability. **Methods** *In vivo* single-pass perfusion model was used and the concentration of α -hederin was determined by HPLC. The effects of intestinal segment, drug concentration, pH value, gut microflora, and P-gp inhibitor on the intestinal absorption of the drug were investigated. **Results** The absorption rate constant (K_a) of α -hederin decreased following the sequence of ileum > colon > jejunum > duodenum. Absorption parameters of α -hederin had no significant difference at different concentration of 75, 150, and 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and those increased with the increase of pH value. The intestinal flora which were disrupted may affect the absorption of α -hederin. There was no significant difference in K_a and P_{eff} values between P-gp inhibitor and no P-gp inhibitor groups. **Conclusion** α -Hederin can be absorbed in whole intestine, but better in lower intestine. The saturate phenomena was not observed under the test range of drug concentration, and the absorption mechanism may be the passive diffusion transport. The absorption can be better under basic condition. The absorption is significantly affected by the intestinal flora and α -hederin is not the substrate of P-gp.

Key words: α -hederin; single-pass perfusion method; *in vivo* intestinal absorption; gut microflora; passive diffusion

α -常春藤皂苷属于单糖链五环三萜皂苷, 为洋常春藤 *Hedera helix* L.^[1]、预知子 *Fructus Akebiae*^[2]、黑种草 *Nigella sativa* L.^[3]等多种植物的有效成分。

现代研究证实 α -常春藤皂苷具有抗肿瘤^[3]、抗炎^[4]、解痉^[5]、抗利什曼原虫^[6]等多种药理作用。本课题组前期研究从预知子中分离得到 α -常春藤皂苷单

收稿日期: 2013-12-04

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2012ZX09103201-008); 江西省科技支撑计划项目 (20111BBG70005-2); 江西省自然科学基金 (20114BAB215046); 江西中医药大学博士启动基金 (Y055); 江西省卫生厅项目 (2012A028); 南昌市科技支撑计划 (洪财企[2012]80号社发支撑-3)

作者简介: 何明珍 (1977—), 女, 瑶族, 在读博士研究生, 研究方向为中药活性成分研究。Tel: (0791)87119632 E-mail: hmz07@163.com

*通信作者 冯育林, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事中药活性成分研究。Tel: (0791)87119632 E-mail: fengyulin2003@126.com

体^[7], 经药理研究发现其具有很强的抗肺癌、结肠癌等活性, 但初步的体内药动学研究发现, 其原粉口服生物利用度很低。

药物口服生物利用度是评价药物吸收和生物转化的重要指标。影响生物利用度的因素除药物本身的性质外, 还与胃肠道生理功能密切相关。其中, 药物在肠道的菌群代谢^[8]以及肠道 P-糖蛋白 (P-gp)^[9]对已吸收药物的主动外排是影响药物口服生物利用度的重要因素。对于 α -常春藤皂苷口服吸收差、生物利用度低的原因, 除与药物本身水溶性差有关外, 初步推测可能与 α -常春藤皂苷的肠吸收过程有很大关系。本研究采用在体单向肠灌注模型, 研究 α -常春藤皂苷在大鼠各肠段的吸收特性。同时, 考察药物质量浓度、pH 值、肠道菌群及 P-gp 对药物吸收的影响。为揭示 α -常春藤皂苷的吸收过程及生物利用度低的原因提供依据, 并对其剂型的研制提供指导。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); KQ—4000B 型超声清洗机 (巩义市予华仪器有限公司); AL204 电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; TGL—16C 台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); HH—2 数显恒温水浴锅 (常州国华电器有限公司); VORTEX3 旋涡混匀器 (德国 IKA 公司); Millipore Synergy 超纯水系统 (美国密理博公司); LEAD 型恒流蠕动泵 (保定兰格恒流泵有限公司)。

1.2 试药

α -常春藤皂苷 (自制, 批号 20110924, 经 ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 谱鉴定为 α -常春藤皂苷, 经 HPLC 测定其质量分数大于 98%); 乌拉坦 (批号 1203147, 上海展云化工有限公司); Krebs-Ringer's 营养液 (K 氏液, 含 KCl 0.35 g/L、NaCl 7.8 g/L、NaHCO₃ 1.37 g/L、NaH₂PO₄ 0.32 g/L、MgCl₂ 0.02 g/L、C₆H₁₂O₆ 1.4 g/L、CaCl₂ 0.37 g/L),

生理盐水 (批号 A120526B1, 江西科伦药业有限公司); 盐酸林可霉素 (批号 L107359, 阿拉丁试剂); 维拉帕米 (批号 100223-200102)、槲皮素 (批号 100081-200907), 中国食品药品检定研究院; 乙腈 (上海振兴化工一厂, 色谱纯), 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD 雄性大鼠, 体质量 (250±10) g, 由北京维通利华实验动物有限公司提供, 动物许可证号 SCXK (京) 2012-0001。适应性喂养 1 周后开始实验, 手术前禁食 12 h, 自由饮水。

2 方法与结果

2.1 α -常春藤皂苷的定量测定

2.1.1 色谱条件^[10] 色谱柱 Cosmosil C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相乙腈-0.2%磷酸水溶液 (45:55); 检测波长 203 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}$ C; 进样量 20 μ L。

2.1.2 溶液配制 供试液: 精密称取 α -常春藤皂苷对照品适量, 置于 250 mL 容量瓶中, 加入 5 mL 乙醇使其充分溶解, 用 K 氏液稀释至刻度即得供试液贮备液。取适量贮备液, 用 K 氏液稀释成含 α -常春藤皂苷质量浓度分别为 75、150、300 μ g/mL 的溶液, 即得不同质量浓度的供试液。空白灌肠液: K 氏液按“2.2”项下方法, 经大鼠在体肠灌注后即得空白灌肠液。

2.1.3 样品处理 取 1.0 mL 肠灌注液, 于 45 $^{\circ}$ C 下氮气吹干, 以 500 μ L 甲醇复溶, 超声并涡旋 2 min, 15 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过即可进样分析。

2.1.4 专属性 取空白灌肠液、对照品+空白灌肠液、供试液灌肠液, 按“2.1.3”项下方法处理, 进样分析。结果显示, 供试液与对照品+空白灌肠液中 α -常春藤皂苷的保留时间一致, 为 14.8 min, 灌肠液中的其他成分不干扰 α -常春藤皂苷的测定。色谱图见图 1。

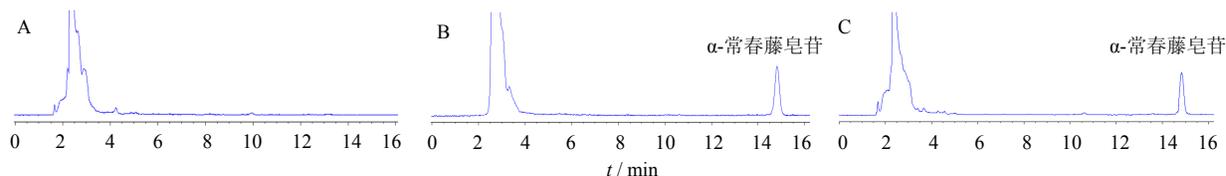


图 1 空白灌肠液 (A)、对照品+空白灌肠液 (B)、供试液灌肠液 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of blank intestinal perfusion (A), reference substance + blank intestinal perfusion (B), and intestinal perfusion sample (C)

2.1.5 标准曲线的建立 精密称取 α -常春藤皂苷对照品, 用含 2%乙醇的空白肠灌流液溶解并稀释成质量浓度为 602.8、301.4、200.9、150.7、100.5、50.2 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液。取对照品溶液, 按“2.1.3”项方法处理, 进样测定。以 α -常春藤皂苷质量浓度为横坐标 (X), 色谱峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得线性回归方程 $Y=12.936X-22.426$ ($r=0.9993$)。结果表明, α -常春藤皂苷在 50.2~602.8 $\mu\text{g/mL}$ 内线性关系良好。

2.1.6 精密度与回收率试验 按“2.1.5”项下方法配制质量浓度分别为 50.2、150.7、602.8 $\mu\text{g/mL}$ 的 α -常春藤皂苷对照品溶液, 每个质量浓度取 5 个样品, 于 1 d 内测定 5 次, 计算日内精密度; 每个质量浓度取 5 个样品, 每日测定 1 次, 连续测定 3 d, 计算日间精密度。结果日内精密度 RSD 依次为 1.67%、1.25%、1.72%, 日间精密度 RSD 依次为 2.10%、1.59%、1.96%。同时, 以上 3 个质量浓度对照品溶液各取 5 个样品, 进样测定, 代入“2.1.5”项下的回归方程, 计算质量浓度, 将所得的质量浓度与实际质量浓度的比值作为方法回收率, 得到回收率分别为 98.1%、101.2%、100.8%, RSD 分别为 1.89%、1.72%、2.10%。

2.2 大鼠在体单向肠灌流实验

2.2.1 手术方法^[11] 实验前以供试液将硅胶管饱 and 约 15 min, 使出口药液质量浓度与供试液质量浓度相等, 以尽量消除灌流管道对药物的吸附所导致的实验误差。将禁食 (自由饮水) 12 h 的 SD 大鼠称体质量, ip 20%乌拉坦 (剂量为 40 mg/kg) 麻醉, 背位固定于手术台上。沿腹中线剪口约 3 cm, 打开腹腔, 分离出待考察的肠段, 取约 10 cm 于两端各切一个小 V 形口, 小心插入硅胶管并结扎, 注意避免伤及血管并摆正肠段使灌流液能流通顺畅。用 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的生理盐水从肠段上端往下端轻缓地将肠内容物冲洗干净。接着用预热 (37 $^{\circ}\text{C}$) 的供试液建立在体单向灌流体系, 灌流方向与冲洗方向一致。实验过程中用浸有 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水的脱脂棉轻轻覆盖于大鼠腹部手术伤口处进行保湿, 并用红外灯照射对大鼠保温。

2.2.2 操作方法^[11] 实验正式进行前以 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的供试液灌流平衡 40 min, 体积流量为 0.2 mL/min。平衡好后, 进口处用已知质量的装有供试液的小瓶进行灌流, 蠕动泵体积流量保持不变, 同时出口处放另一已知质量的小瓶收集流出肠液, 每隔 15 min

迅速更换下 1 个称好的盛有供试液的小瓶和空的收集液小瓶, 放冷至室温后, 称量灌流液小瓶和收集液小瓶的质量, 并检测 α -常春藤皂苷在供试液中的质量浓度和流出灌肠液中的质量浓度。实验共收集 8 个时间段的样品, 实验持续时间为 120 min。最后将大鼠处死, 剪下灌流肠段, 测量其长度和半径。

2.2.3 数据处理^[12] 按公式计算净水流量 (NWF)、药物吸收百分率 (P_a)、药物吸收速率常数 (K_a)、小肠有效渗透系数 (P_{eff})。

$$\text{NWF}=(Q_{\text{in}}-Q_{\text{out}})/L$$

$$P_a=1-(C_{\text{out}}/C_{\text{in}})\times(V_{\text{out}}/V_{\text{in}})$$

$$K_a=(P_a\times Q_{\text{in}})/V$$

$$P_{\text{eff}}=-Q_{\text{in}}\times\ln[(C_{\text{out}}/C_{\text{in}})\times(V_{\text{out}}/V_{\text{in}})]/A$$

Q_{in} 为肠道入口灌流液的体积流量 (mL/min), Q_{out} 为肠道出口流出液的体积流量 (mL/min); C_{in} 和 C_{out} 分别为肠道灌入液、肠道流出液中药物的质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$); R 为灌流肠段半径 (cm), L 灌流肠段长度 (cm), A 为灌流肠段的表面积 (cm^2 , $A=2\pi RL$), V 为灌流肠段体积 (mL, $V=\pi R^2L$); V_{in} 和 V_{out} 分别为灌入和流出收集的灌流液体积 (mL, $V_{\text{in}}=M_{\text{in}}/\rho_{\text{in}}$, $V_{\text{out}}=M_{\text{out}}/\rho_{\text{out}}$), M_{in} 和 M_{out} 分别为灌入和流出收集的灌流液质量 (g); ρ_{in} 和 ρ_{out} 为灌入和流出收集的灌流液校正密度 (精密吸取 1.0 mL 灌入或流出的灌流液, 放入称量好的 PE 管中称质量, 即分别为 ρ_{in} 和 ρ_{out})

2.2.4 统计分析 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 IBM SPSS Statistics 21 统计软件处理, 各组间数据采用 t 检验进行比较。

2.3 不同因素对药物肠吸收影响的考察

2.3.1 大鼠肠道不同肠段的考察 取 α -常春藤皂苷质量浓度为 150 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液, 按“2.2”项下的单向灌流方法操作, 考察药物在大鼠十二指肠、空肠、回肠、结肠 4 个肠段的吸收情况。考察肠段区间均取约 10 cm, 肠道各区段的划分如下: 十二指肠段由幽门往下 2 cm 开始, 空肠段离幽门 15 cm 处开始, 回肠段自盲肠上行 20 cm 开始, 结肠段从盲肠后端开始。计算每 15 分钟的 K_a 和 P_{eff} 值, 结果见表 1。

结果表明, α -常春藤皂苷在不同肠段均有吸收, 其不同肠段的 K_a 大小顺序是回肠 > 结肠 > 空肠 > 十二指肠。对各肠段的 K_a 、 P_{eff} 进行两两配对 t 检验发现, 除空肠与十二指肠 (K_a 值比较)、空肠与结肠 (K_a 、 P_{eff} 值比较) 之间无显著差异外, 其他各组之间在此 2 个参数水平上有显著差异 ($P < 0.05$)。肠道下端 α -常春藤皂苷的吸收优于肠道上端的吸收。

表 1 α -常春藤皂苷在大鼠不同肠段吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Absorption parameters of α -hederin at various segments in intestine of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

肠段	$K_a / (\times 10^{-2} \cdot \text{min}^{-1})$	$P_{\text{eff}} / (\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{min}^{-1})$
十二指肠	0.778 8 \pm 0.147 1	0.745 7 \pm 0.104 2
空肠	1.101 2 \pm 0.129 9	1.226 8 \pm 0.280 5
回肠	1.760 8 \pm 0.128 1	2.225 5 \pm 0.223 8
结肠	1.155 9 \pm 0.094 5	1.636 4 \pm 0.151 6

2.3.2 不同药物质量浓度的考察 以空肠为考察肠段, 取质量浓度为 75、150、300 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液, 按“2.2”项下的方法操作, 分别进行实验, 考察药物质量浓度对吸收的影响。计算每 15 分钟的 K_a 、 P_{eff} 值, 结果见表 2。各组数据经配对 t 检验, 不同质量浓度下 α -常春藤皂苷大鼠空肠吸收参数没有显著性差异, 提示 α -常春藤皂苷在小肠的吸收没有浓度依赖性, 吸收机制为被动扩散。

表 2 不同质量浓度的 α -常春藤皂苷大鼠空肠吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Absorption parameters of α -hederin at different concentration in jejunum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

$\rho / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	$K_a / (\times 10^{-2} \cdot \text{min}^{-1})$	$P_{\text{eff}} / (\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{min}^{-1})$
75	1.098 8 \pm 0.059 3	1.265 6 \pm 0.085 7
150	1.101 2 \pm 0.129 9	1.226 8 \pm 0.280 5
300	1.114 4 \pm 0.183 4	1.042 6 \pm 0.185 7

2.3.3 介质不同 pH 值的考察 质量浓度为 150 $\mu\text{g/mL}$ 的 α -常春藤皂苷供试液, pH 值为 6.8, 用稀盐酸和稀 NaOH 溶液分别调节 pH 值至 5.0 和 8.0, 得到 3 种不同 pH 值的 α -常春藤皂苷供试液。取以上 3 种供试液, 以空肠为考察肠段, 按“2.2”项下的方法操作分别进行实验, 考察介质 pH 值对 α -常春藤皂苷肠吸收的影响。计算 K_a 和 P_{eff} , 结果见表 3。结果表明, 当介质 pH 值升高时, α -常春藤皂苷在空肠的 K_a 、 P_{eff} 值显著性增高。

2.3.4 肠道菌群的考察 取 SD 大鼠 10 只, 随机分成 2 组, 每组 5 只。一组为阴性对照, 另一组 ig 以生理盐水溶解的盐酸林可霉素, 剂量为 5 g/kg, 连续给药 3 d, 以扰乱大鼠肠道内正常菌群环境^[13]。取 α -常春藤皂苷质量浓度为 150 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液, 以空肠为考察肠段, 按“2.2”项下的方法操作对两组大鼠分别进行实验。计算 K_a 和 P_{eff} , 结果见表 4。两组数据进行 t 检验比较, 干扰肠道菌群后 α -常春藤皂苷的吸收显著下降。

表 3 介质不同 pH 值的 α -常春藤皂苷大鼠空肠吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Absorption parameters of α -hederin in perfusion with different pH values in jejunum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

pH 值	$K_a / (\times 10^{-2} \cdot \text{min}^{-1})$	$P_{\text{eff}} / (\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{min}^{-1})$
5.0	0.258 8 \pm 0.082 3	0.318 3 \pm 0.116 7
6.8	1.101 2 \pm 0.129 9	1.226 8 \pm 0.280 5
8.0	1.918 6 \pm 0.058 1	2.429 1 \pm 0.131 7

表 4 肠道菌群对 α -常春藤皂苷大鼠空肠吸收的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of gut microorganism on absorption of α -hederin in jejunum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	$K_a / (\times 10^{-2} \cdot \text{min}^{-1})$	$P_{\text{eff}} / (\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{min}^{-1})$
阴性对照	1.076 7 \pm 0.217 4	1.226 8 \pm 0.280 5
盐酸林可霉素	0.699 7 \pm 0.113 2	0.744 6 \pm 0.119 7

2.3.5 P-gp 的考察 取 SD 大鼠随机分成 3 组, 每组 5 只。以维拉帕米和槲皮素为 P-gp 抑制剂, 用 α -常春藤皂苷质量浓度 150 $\mu\text{g/mL}$ 供试液配制维拉帕米质量浓度为 125 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液和槲皮素质量浓度为 15 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液。按“2.2”项下的方法操作, 以回肠为考察肠段, 考察 P-gp 抑制剂对药物吸收的影响。计算 K_a 和 P_{eff} , 结果见表 5。将维拉帕米组和槲皮素组分别与阴性组进行 t 检验比较, 发现 P-gp 抑制剂组与阴性组吸收参数没有显著差异。表明 α -常春藤皂苷不是 P-gp 底物。

3 讨论

前期研究发现 α -常春藤皂苷水溶性很差, 故参照相关文献的方法^[14], 在配制供试液时, 先用乙醇将药物溶解, 再用 K 氏液稀释至刻度, 使药物浓度达到实验要求。肠的吸收过程中, 除吸收药物外, 供试液中的水分或乙醇也会被吸收, 同时肠道也会

表 5 P-gp 对 α -常春藤皂苷大鼠回肠吸收的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Effect of P-gp on absorption of α -hederin in ileum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	$K_a / (\times 10^{-2} \cdot \text{min}^{-1})$	$P_{\text{eff}} / (\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{min}^{-1})$
阴性对照	1.699 7 \pm 0.098 8	2.114 1 \pm 0.177 9
维拉帕米	1.465 3 \pm 0.161 3	2.040 8 \pm 0.248 4
槲皮素	1.702 1 \pm 0.202 4	2.332 1 \pm 0.374 0

分泌体液导致供试液的体积前后发生变化,故不能直接用测定药物质量浓度的方法计算剩余药量。本研究采用质量法,通过肠灌流液前后质量及密度的变化对其体积进行校正,而使数据更精确。

α -常春藤皂苷在全肠段均有吸收,但吸收普遍较小^[15],除肠道生理因素外,可能与其亲水性弱有很大关系。而其在肠道下部的吸收相对更好,初步推断可能与肠道下部 pH 值较高有关。同时,在不同 pH 值条件下的实验结果显示,随着 pH 值的升高,吸收增加。此结果与文献报道的 pH 值分配假说^[16]不符,究其原因,可能与 α -常春藤皂苷在不同 pH 值下的溶解度有关。

肠道的内生菌群对药物的吸收有重要影响。口服药物进入肠道后,可能在肠道菌群的作用下发生代谢从而影响药物的生物活性、生理性状、生物利用度等^[17-18]。有文献报道,皂苷类药物在肠道菌群作用下易发生水解脱糖等反应^[19-20],对该类药物的吸收有较大影响。推测 α -常春藤皂苷也有可能发生类似作用。本研究使用盐酸林可霉素干扰大鼠肠道正常菌群环境,进行在体肠灌流实验。结果表明,干扰组与正常组相比,吸收显著下降。此结果有两种可能的解释:其一,正常菌群可能有助于 α -常春藤皂苷的渗透吸收,当菌群受干扰后,吸收下降;其二,正常菌群可能有助于 α -常春藤皂苷代谢转化成其他物质,当菌群受干扰后,转化减少,而显示 α -常春藤皂苷吸收下降。

据文献报道^[21-22],P-gp 的外排作用是导致许多药物口服生物利用度低的重要原因。研究 α -常春藤皂苷是否属于 P-gp 底物对于探讨 α -常春藤皂苷生物利用度低具有重要意义。初步研究显示, α -常春藤皂苷在生物药剂分类系统^[23]中属于 Class IV 型药物,具有水溶性差、渗透性差的特点,可能导致其在十二指肠及空肠的吸收不完全进而转移至回肠进行吸收^[24],而 P-gp 在回肠具有高表达,故而选择回肠进行实验。实验结果显示 α -常春藤皂苷不是 P-gp 底物。

本实验结果表明 α -常春藤皂苷在肠道内不易吸收,可能是其口服生物利用度低的原因,并且肠道菌群的代谢是主要原因。

参考文献

[1] Demirci B, Goppel M, Demirci F, et al. HPLC profiling and quantification of active principles in leaves of *Hedera helix* L. [J]. *Die Pharmazie*, 2004, 59(10): 770-774.

[2] 江纪武,肖庆祥. 植物药有效成分手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.

[3] Rooney S, Ryan M F. Effects of Alpha-hederin and thymoquinone, constituents of *Nigella sativa*, on human cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(3B): 2199-2204.

[4] Li D W, Hyun J E, Jeong C S, et al. Antiinflammatory activity of α -hederin methyl ester from the alkaline hydrolysate of the butanol fraction of *Kalopanax pictum* bark extract [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(4): 429-433.

[5] Sieben A, Prenner L, Sorkalla T, et al. Alpha-hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of 2-adrenergic receptors [J]. *Biochemistry*, 2009, 48(15): 3477-3482.

[6] Ridoux O, Di Giorgio C, Delmas F, et al. *In vitro* Antileishmanial activity of three saponins isolated from ivy, α -hederin, β -hederin and hederacolchiside A1, in association with pentamidine and amphotericin B [J]. *Phytother Res*, 2001, 15(4): 298-301.

[7] 侯雄军,刘岩庭,张武岗,等. 预知子中 α -常春藤皂苷提取工艺研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2012, 23(2): 204-207.

[8] Nicholson J K, Holmes E, Wilson I D. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3(5): 431-438.

[9] Yang C, Zhang T, Li Z, et al. P-glycoprotein is responsible for the poor intestinal absorption and low toxicity of oral aconitine: *In vitro*, *in situ*, *in vivo* and *in silico* studies [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, DOI: 10.1016/j.taap.2013.09.030.

[10] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[11] 潘德城,孙婷婷,孙勇兵,等. 单向灌流法研究丹参提取物中丹参素和原儿茶醛大鼠肠吸收特性 [J]. *中草药*, 2011, 42(5): 944-950.

[12] 潘洪平. 葛根素的吸收动力学及对脑缺血损伤的保护作用研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2010.

[13] 唐 灿. 灯盏花素肠吸收动力学的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2004.

[14] 薛 瑞. 雷公藤主成分肠吸收动力学研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2010.

[15] Sun L, Liu X, Xiang R, et al. Structure-based prediction of human intestinal membrane permeability for rapid *in silico* BCS classification [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2013, 34(6): 321-335.

[16] Yu L X, Lipka E, Crison J R, et al. Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery

- systems: prediction of intestinal absorption [J]. *Adv Drug Del Rev*, 1996, 19(3): 359-376.
- [17] Boxenbaum H G, Bekersky I, Jack M L, *et al.* Influence of gut microflora on bioavailability [J]. *Drug Metabol Rev*, 1979, 9(2): 259-279.
- [18] Illing H P. Techniques for microfloral and associated metabolic studies in relation to the absorption and enterohepatic circulation of drugs [J]. *Xenobiotica: Fate Foreign Comp Biol Syst*, 1981, 11(12): 815-830.
- [19] Takeda S, Ishthara K, Wakui Y, *et al.* Bioavailability study of glycyrrhetic acid after oral administration of glycyrrhizin in rats; relevance to the intestinal bacterial hydrolysis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1996, 48(9): 902-905.
- [20] 王娟, 单进军, 狄留庆, 等. 五环三萜皂苷类活性成分口服吸收与代谢研究进展 [J]. *中草药*, 2012, 43(1): 196-200.
- [21] Wahajuddin, Raju K S, Singh S P, *et al.* Investigation of functional role of P-glycoprotein in limiting the oral bioavailability of lumefantrine [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, DOI: 10.1128/AAC.01382-13.
- [22] Dai H, Li X, Li X, *et al.* Coexisted components of *Salvia miltiorrhiza* enhance intestinal absorption of cryptotanshinone via inhibition of the intestinal P-gp [J]. *Phytomed: Int J Phytother Phytopharmacol*, 2012, 19(14): 1256-1262.
- [23] Amidon G L, Lennernas H, Shah V P, *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability [J]. *Pharm Res*, 1995, 12(3): 413-420.
- [24] Varma M V, Panchagnula R. Prediction of *in vivo* intestinal absorption enhancement on P-glycoprotein inhibition, from rat *in situ* permeability [J]. *J Pharm Sci*, 2005, 94(8): 1694-1704.