

## 穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯大鼠肠吸收特性研究

华素<sup>1,2</sup>, 李园园<sup>1</sup>, 赵军利<sup>1</sup>, 张瑜<sup>1</sup>, 韩光<sup>1\*</sup>, 乔惠<sup>1</sup>, 朱笛<sup>1</sup>, 刘笑<sup>1</sup>

1. 河南大学药物研究所, 河南 开封 475004

2. 河南省宛西制药股份有限公司 研发部, 河南 郑州 450000

**摘要:** **目的** 研究穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的大鼠在体肠吸收特性。**方法** 采用大鼠在体肠灌注实验模型, 以紫外分光光度法测定酚红质量浓度, 高效液相色谱法测定灌注液中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯质量浓度, 分别研究质量浓度、pH值和吸收部位对穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯肠吸收的影响。**结果** 随着穿心莲提取物(111.22~335.78 μg/mL)质量浓度的增加, 穿心莲内酯的吸收速率常数( $K_a$ )和单位时间吸收率( $P$ )均降低; 随着pH值由5.34升至6.38, 穿心莲内酯的 $K_a$ 和 $P$ 略微增加, 随着pH值由6.38升至7.40, 穿心莲内酯的 $K_a$ 和 $P$ 均降低; 穿心莲内酯在不同肠段中均有吸收, 各肠段的 $P$ 按十二指肠、空肠、回肠、结肠顺序依次下降。穿心莲提取物在111.22~222.78 μg/mL随着质量浓度增大, 脱水穿心莲内酯的 $K_a$ 和 $P$ 均下降; 穿心莲提取物在222.78~335.78 μg/mL随着质量浓度增大, 脱水穿心莲内酯的 $K_a$ 和 $P$ 基本无变化; pH值5.34时吸收较好, 随着pH值由5.34升至7.40, 脱水穿心莲内酯的 $K_a$ 和 $P$ 呈略微下降的趋势;  $P$ 按回肠、空肠、结肠、十二指肠顺序依次下降。**结论** 穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯在小肠的吸收均不是简单的被动扩散, 还包括载体媒介转运; 吸收均受pH值的影响; 十二指肠为穿心莲内酯的最佳吸收部位, 回肠为脱水穿心莲内酯的最佳吸收部位; 肠吸收时穿心莲提取物中其他成分对穿心莲内酯的吸收基本无影响, 但对脱水穿心莲内酯的吸收有一定的促进作用。

**关键词:** 穿心莲; 穿心莲内酯; 脱水穿心莲内酯; 在体肠吸收; 原位肠灌注模型

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)21-3117-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.21.015

## Intestinal absorptive characteristics of andrographolide and dehydroandrographolide in extract from *Andrographis paniculata* in rats

HUA Su<sup>1,2</sup>, LI Yuan-yuan<sup>1</sup>, ZHAO Jun-li<sup>1</sup>, ZHANG Yu<sup>1</sup>, HAN Guang<sup>1</sup>, QIAO Hui<sup>1</sup>, ZHU Di<sup>1</sup>, LIU Xiao<sup>1</sup>

1. Institute of Matiria Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China

2. R & D Department, Henan Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

**Abstract: Objective** To investigate the intestinal absorptive characteristics of andrographolide (A) and dehydroandrographolide (DDA) in the extract of *Andrographis paniculata* in rats. **Methods** The intestine of rat was cannulated for *in situ* perfusion. UV was used to determine the concentration of phenol red, and HPLC was used to determine the concentration of A and DDA. The effects of drug concentration, pH value, and absorption site on the absorption had been studied. **Results** In 111.22—335.78 μg/mL dose range of *A. paniculata* extract,  $K_a$  and  $P$  of A were reduced with the increase of concentration. With the pH value increasing from 5.34 to 6.38,  $K_a$  and  $P$  were increased slightly. With the pH value increasing from 6.38 to 7.40,  $K_a$  and  $P$  had a downward trend. A was absorbed in various sections of intestines, and the  $P$  descended in the order of duodenum, jejunum, ileum, and colon. In 111.22—222.78 μg/mL dose range of *A. paniculata* extract,  $K_a$  and  $P$  were reduced with the increase of concentration. In 222.78—335.78 μg/mL dose range,  $K_a$  and  $P$  had no change with the increase of concentration. Under the condition of pH 5.34, the absorption was better. With the pH value increasing from 5.34 to 7.40,  $K_a$  and  $P$  showed a slight downward trend, and  $P$  descended in the order of ileum, jejunum, colon, and duodenum. **Conclusion** The intestinal absorption mechanism of A and DDA in *A. paniculata* extract is not just passive transport, but also including the carrier medium transport which are both affected by pH value. The best absorption site of A is duodenal, and the best absorption site of DDA is ileum. Other components may have no significant influence to the intestinal absorption of A, but they may promote the intestinal absorption of DDA.

**Key words:** *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees; andrographolide; dehydroandrographolide; intestinal absorption; *in situ* perfusion model

收稿日期: 2014-04-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81373974); 河南省科技厅重点科技攻关项目(122102310029)

作者简介: 华素(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然活性成分研究及新药开发。Tel: 15038337402 E-mail: woshihuasu@126.com

\*通信作者 韩光, 女, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为天然活性成分研究及新药开发。Tel: 13803786005 E-mail: hang@henu.edu.cn

穿心莲为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分, 原产于菲律宾、印度、斯里兰卡、泰国等热带地区, 后北移至我国陕西、北京、四川等地。以穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯为代表的二萜内酯类化合物是穿心莲的主要有效成分, 具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗心血管疾病、保肝、利胆、降血糖、抗生育、镇静及免疫调节等药理作用<sup>[1-5]</sup>。目前关于穿心莲活性成分单体在肠道吸收情况的研究已有报道<sup>[6-10]</sup>, 穿心莲提取物是采用现代超分子技术制备而得<sup>[11]</sup>, 分离确证的化合物有穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、异穿心莲内酯、新穿心莲内酯和 14-去氧穿心莲内酯<sup>[12]</sup>, 前期研究证实其解热、抗炎和抗肿瘤作用明显优于其有效单体, 显示出了中药有效部位用药的优越性, 但对于穿心莲提取物的肠道吸收研究尚未见文献报道。本实验选用大鼠在体灌流的方法建立了穿心莲提取物的在体肠吸收模型, 以穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯作为指标成分, 研究其在大鼠的小肠吸收特性, 以期为穿心莲提取物的新制剂研发提供理论和实验基础。

## 1 仪器与材料

LC—2010 高效液相色谱仪 (岛津 CLASS-VP 色谱工作站, 紫外检测器, 日本岛津); KQ—300VDE 型双频数控超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); HL—2 恒流泵 (上海沪西分析仪器有限公司); 梅特勒-托利多 DELTA 320 pH 计 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 丹佛 TP 系列电子分析天平 (丹佛仪器有限公司); TGL—16C 型高速台式离心机 (上海安亭科学仪器有限公司); UV1600 紫外可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司)。

穿心莲提取物, 河南大学药物研究所制备, 批号 20120215, 经 HPLC 测定, 其中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的质量分数分别为 38.45% 和 12.73%; 穿心莲内酯对照品 (成都天台山制药有限公司, 质量分数 > 99.8%, 批号 100804); 脱水穿心莲内酯对照品 (河南大学药物研究所制备, 批号 20111126, 结构经 IR、UV、MS、<sup>1</sup>H-NMR 确证, 经 HPLC 法测定, 质量分数 > 99.6%); 酚红 (上海化学试剂总厂, 批号 100324); 戊巴比妥钠 (中国医药上海化学试剂公司, 批号 F20100316); 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂为分析纯。

SD 大鼠, 雄性, SPF 级, 体质量 (200 ± 20) g, 河南省实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK

(豫) 2010-0002。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液配制

**2.1.1** Krebs-Ringer (K-R) 溶液 (pH 7.4) 的制备 称取 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 1.40 g, 加水定容至 1 000 mL, 即得。

**2.1.2** 含酚红 K-R 溶液的制备 精密称取酚红适量, 用 K-R 溶液溶解并稀释成含酚红 20 μg/mL 的溶液, 即得。

**2.1.3** 供试品溶液的制备 分别精密称取穿心莲提取物 55.61、111.39、167.89 mg, 用适量无水乙醇超声溶解, 可配制得低、中、高质量浓度的穿心莲提取物乙醇溶液, 转移至 500 mL 量瓶中, 分别用 pH 7.40 含酚红 K-R 溶液溶解并定容, 混匀, 得到低、中、高质量浓度的供试品溶液 (质量浓度分别为 111.22、222.78、335.78 μg/mL)。

含酚红 K-R 液用稀盐酸和稀氢氧化钠调节 pH 值分别为 5.34、6.38、7.40, 将配制的 3 份中质量浓度 (222.78 μg/mL) 的穿心莲提取物乙醇溶液转移至 500 mL 量瓶中, 分别用所配制的不同 pH 值的含酚红 K-R 液溶解并定容, 混匀, 即得到 pH 值分别为 5.34、6.38、7.40 的供试品溶液。

### 2.2 酚红标准曲线的绘制

精密称取酚红 10.3 mg, 用 K-R 液溶解并定容至 50 mL。精密吸取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 用 K-R 液定容至 10 mL, 即得到质量浓度分别为 10.30、20.60、41.20、61.80、82.40、103.00 μg/mL 的酚红标准溶液。精密吸取上述溶液各 0.5 mL, 置 10 mL 刻度试管中, 准确加入 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液 5 mL, 混匀。以 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液为参比, 在 558 nm 处测吸光度 (A) 值, 以酚红质量浓度 C (μg/mL) 为横坐标, 以 A 值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程:  $A = 0.0156C + 0.0152$  ( $r = 0.9995$ ,  $n = 5$ ), 线性范围 10.30 ~ 103.00 μg/mL。

### 2.3 穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的定量测定

**2.3.1** 色谱条件 色谱柱 Diamonsil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (55 : 45); 柱温 25 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 248 nm; 进样量 20 μL; 理论塔板数以穿心莲内酯计算不低于 2 000; 拖尾因子以穿心莲内酯计算为 1.03; 穿心莲内酯峰、脱水穿心莲内酯峰与其相邻峰的分度均不小于 2.5。

**2.3.2 标准曲线的绘制** 精密称取穿心莲内酯 28.35 mg、脱水穿心莲内酯 7.26 mg 于 100 mL 量瓶中，用适量无水乙醇溶解，加 K-R 液定容。分别吸取上述溶液 0.10、0.25、0.50、1.25、2.00、6.25、10.00 mL 于 10 mL 量瓶中，加入 K-R 液定容，摇匀，分别得到穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的系列质量浓度混合溶液。经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，HPLC 测定，以峰面积为纵坐标 (Y)，质量浓度为横坐标 (X) 绘制标准曲线并进行线性回归，得穿心莲内酯的回归方程： $Y=1.700 0 \times 10^7 X+76 155$ ，

$r=0.996 (n=5)$ ，线性范围 2.835~283.5 μg/mL；脱水穿心莲内酯的回归方程： $Y=3.100 0 \times 10^7 X-15 599$ ， $r=0.999 (n=5)$ ，线性范围 0.73~72.60 μg/mL。

**2.3.3 专属性试验** 取对照品溶液、空白肠循环液 (含酚红 20 μg/mL 的 K-R 液 95 mL 于循环装置中灌流 6 h 即得) 和供试品肠循环液进样分析，色谱图见图 1。穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的保留时间分别为 12.6 min 和 41.5 min，供试品肠循环液主峰保留时间与对照品溶液一致，空白肠循环液无干扰。

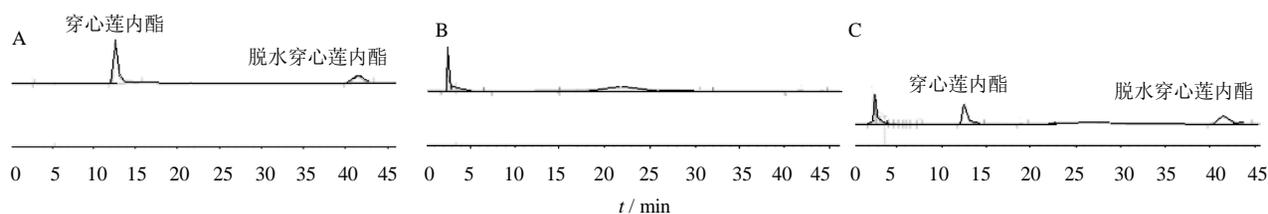


图 1 对照品 (A)、空白肠循环液 (B) 和穿心莲提取物肠循环液 (C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of reference substance (A), blank intestinal circulation fluid (B), and *A. paniculata* extract intestinal circulation fluid (C)

**2.3.4 精密度试验** 取用 K-R 液配制的穿心莲内酯质量浓度分别为 3.40、115.10、226.80 μg/mL，脱水穿心莲内酯质量浓度分别为 0.87、29.48、58.08 μg/mL 的低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，进样 20 μL，测定，以 1 d 内测定的 5 次结果计算日内精密度，连续测 5 d 计算日间精密度。穿心莲内酯日内精密度 RSD 分别为 2.86%、4.37%、3.19%；日间精密度 RSD 分别为 3.88%、4.26%、2.96%。脱水穿心莲内酯日内精密度 RSD 分别为 3.65%、4.21%、4.37%，日间精密度 RSD 分别为 4.16%、3.77%、4.52%。

**2.3.5 回收率试验** 取用空白肠循环液所配制的穿心莲内酯溶液 (质量浓度分别为 3.40、115.10、226.80 μg/mL) 和脱水穿心莲内酯溶液 (质量浓度分别为 0.87、29.48、58.08 μg/mL)，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，进样 20 μL，在上述色谱条件下分离测定，记录色谱图，以穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的峰面积，按标准曲线计算质量浓度。以空白肠循环液中加样品测定结果与样品的加入量比较计算回收率。结果穿心莲内酯回收率分别为 99.76%、99.96%、100.04%，RSD 分别为 2.72%、2.86%、3.65%；脱水穿心莲内酯回收率分别为 100.03%、99.97%、100.06%，RSD 分别为 2.93%、3.68%、3.54%。

**2.3.6 稳定性考察** 分别以此空白肠循环液 40 mL 配制低、中、高 3 种质量浓度的穿心莲提取物供试品溶液，质量浓度分别为 111.22、222.78、335.78 μg/mL，置 (37±0.5) °C 水浴中孵育，分别于 0、1、2、4、6 h 取样，测定峰面积，观察质量浓度变化。结果穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯在肠循环溶液中水浴 6 h 质量浓度基本不变，表明在 37 °C 水浴中放置 6 h，样品中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯基本稳定，穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的峰面积 RSD 值分别为 0.41%、0.24%。

**2.3.7 大鼠肠壁对穿心莲提取物的物理吸附作用考察** 取 SD 大鼠，脱颈处死后迅速剪取大鼠小肠，用玻璃棒将黏膜层翻出，用生理盐水洗净，置于质量浓度为 222.78 μg/mL，pH 7.40 供试品溶液中，于 (37±0.5) °C 水浴中孵育 6 h，取出肠段，测定孵育前后供试品溶液中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的质量浓度，结果孵育后穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的平均剩余率分别为 92.99% 和 94.08% (n=3)，表明大鼠肠壁对穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯无明显的物理吸附作用。

**2.4 大鼠在体肠吸收实验**

取 SD 大鼠，禁食不禁水 12 h，ip 1% 戊巴比妥钠溶液 (40 mg/kg)，麻醉，固定。沿腹中线打开腹腔 (约 3 cm)，在实验肠管两端各切一小口，上端

小口与蠕动泵的出口胶管直接连接，用线扎紧；下端小口处插入直径为 0.3 cm 的胶管，并用线扎紧，此胶管出口通生理盐水或供试品溶液。打开蠕动泵，使 (37±0.5) °C 的生理盐水缓缓进入肠管，洗净肠管内容物，再用空气排净残留液体后关闭。换为供试品溶液后，开启蠕动泵，以体积流量 5.0 mL/min 循环 10 min 后，将体积流量调节为 2.5 mL/min，自供试品溶液中取样 2.0 mL，作为测定零时间的样品，另向供试品溶液中补加 (37±0.5) °C 恒温的含有酚红的 K-R 液 3.0 mL，其后每隔 15 min 同法取样并同法补加 3.0 mL K-R 液，红外灯保持 37 °C，循环 2 h 后停止实验。根据酚红质量浓度计算出供试液的体积，根据每一时间段药物质量浓度和供试液体积的变化计算出肠循环液中的剩余药量 (X)。

### 2.5 肠吸收参数计算

以小肠剩余药量的对数 (lnX) 对取样时间 (t) 做图，得直线，由直线斜率得吸收速率常数 (K<sub>a</sub>)，计算单位时间吸收率 (P)。

$$\ln X = \ln X_0 - K_a \times t$$

$$P = (C_0 \times V_0 - C_t \times V_t) / (C_0 \times V_0 \times t)$$

X<sub>0</sub> 为 0 时供试品溶液中的药物量，C<sub>0</sub> 为供试品溶液中药物初始质量浓度，V<sub>0</sub> 为供试品溶液初始体积，C<sub>t</sub> 为 t 时肠循环液中药物质量浓度，V<sub>t</sub> 为 t 时肠循环液体积

### 2.6 药物质量浓度对穿心莲提取物肠道吸收的影响

根据前期药效学实验结果，确定质量浓度分别为 111.22、222.78、335.78 μg/mL (pH 7.40) 作为穿心莲提取物肠循环液的低、中、高剂量。SD 大鼠 15 只，随机分为 3 组。实验前禁食 12 h，可自由饮水，按“2.4”项下整肠段的循环灌注方法考察不同药物质量浓度对穿心莲提取物肠吸收的影响。整肠段考察自十二指肠上端起至回肠下端起。

由表 1 可知，随着穿心莲提取物质量浓度增加，穿心莲内酯 K<sub>a</sub> 和 P 均呈下降趋势，各质量浓度间两两比较差异显著 (P<0.05、0.01)，穿心莲提取物中穿心莲内酯的吸收存在饱和现象，推测其吸收存在载体媒介转运，主动转运和/或促进扩散，还有待进一步研究确证。

表 1 不同质量浓度穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的大鼠在体肠吸收参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )  
Table 1 Intestinal absorption parameters of A and DDA in *A. paniculata* extract with different concentration *in situ* in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

ρ / (μg·mL <sup>-1</sup> )	穿心莲内酯		脱水穿心莲内酯	
	K <sub>a</sub> / h <sup>-1</sup>	P / %	K <sub>a</sub> / h <sup>-1</sup>	P / %
111.22	0.041 9 ± 0.004 4	49.249 2 ± 5.445 5	0.025 2 ± 0.009 3	45.482 2 ± 4.976 7
222.78	0.018 6 ± 0.008 1**	42.190 2 ± 5.941 7**	0.010 2 ± 0.002 4	33.454 2 ± 6.494 0
335.78	0.009 6 ± 0.004 5**#	33.297 8 ± 6.787 4**#	0.011 0 ± 0.003 8	34.072 7 ± 7.544 5

与 111.22 μg·mL<sup>-1</sup> 比较: \*\*P<0.01; 与 222.78 μg·mL<sup>-1</sup> 比较: #P<0.05  
\*\*P<0.01 vs 111.22 μg·mL<sup>-1</sup>; #P<0.05 vs 222.78 μg·mL<sup>-1</sup>

随着穿心莲提取物质量浓度增加，脱水穿心莲内酯 K<sub>a</sub> 和 P 呈下降趋势，在穿心莲提取物质量浓度为 222.78 μg/mL 时吸收达到平衡，K<sub>a</sub> 和 P 基本不再变化。推测脱水穿心莲内酯在小肠的吸收同样存在载体媒介转运。

### 2.7 pH 值对穿心莲提取物肠道吸收的影响

选用 222.78 μg/mL 作为研究不同 pH 值对肠吸收影响的剂量。根据预试验结果，确定考察介质酸碱度对穿心莲提取物肠吸收影响的 pH 值分别为 5.34、6.38 和 7.40。SD 大鼠 15 只，随机分为 3 组。实验前禁食 12 h，可自由饮水，按“2.4”项下整肠段的循环灌注方法进行操作，考察不同 pH 值对穿心莲提取物肠吸收的影响。

由表 2 发现，随着 pH 值由 5.34 升至 6.38，穿心莲提取物中穿心莲内酯的 K<sub>a</sub> 和 P 略微增加；pH 值从 6.38 升至 7.40，K<sub>a</sub> 和 P 均降低，药物渗透性减弱，不同 pH 值下穿心莲内酯的 P 存在显著差异 (P<0.05)。因此，穿心莲提取物中穿心莲内酯在小肠的吸收受 pH 值的影响，pH 7.40 的吸收明显低于 pH 5.34 和 6.38 时的吸收。

随着 pH 值由 5.34 升至 7.40，穿心莲提取物中脱水穿心莲内酯的 K<sub>a</sub> 和 P 均呈下降趋势。其中 pH 值 5.34 与 7.40 的 P 有显著差异 (P<0.05)。因此，穿心莲提取物中脱水穿心莲内酯在小肠的吸收受 pH 值的影响，在 pH 5.34~7.40 内，pH 值越大，吸收越差。

表 2 不同 pH 值下穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的大鼠在体肠吸收参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )  
Table 2 Intestinal absorption parameters of A and DDA in different pH values *in situ* in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

pH 值	穿心莲内酯		脱水穿心莲内酯	
	$K_a / h^{-1}$	$P / \%$	$K_a / h^{-1}$	$P / \%$
5.34	0.031 4 ± 0.013 8	47.806 1 ± 1.909 5*	0.015 3 ± 0.004 7	41.992 9 ± 3.751 3*
6.38	0.031 7 ± 0.010 0	48.435 0 ± 1.506 5*	0.012 7 ± 0.002 4	38.041 6 ± 2.981 8
7.40	0.018 6 ± 0.008 1	42.190 2 ± 5.941 7	0.010 2 ± 0.002 4	33.454 2 ± 6.494 0

与 pH 值 7.40 比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs pH value 7.40

### 2.8 吸收部位对穿心莲提取物肠道吸收的影响

选用质量浓度为 222.78  $\mu\text{g/mL}$ , pH 6.38 作为大鼠不同吸收部位对穿心莲提取物吸收研究的条件。SD 大鼠 20 只, 随机分为 4 组。实验前禁食 12 h, 可自由饮水。按“2.4”项下, 分别取十二指肠、空肠、回肠、结肠进行分肠段的穿心莲提取物吸收考察, 研究其最佳吸收部位。实验观察的各肠道区段皆取 10 cm, 各肠道区段的选择: 十二指肠段距幽门 1 cm 处作为起始往下; 空肠段距幽门 15 cm 处作为起始往下; 回肠段自盲肠向上 20 cm 处作为起始往下; 结肠段从盲肠后端开始往下。

由表 3 可知, 穿心莲提取物中穿心莲内酯在不同肠段的吸收按十二指肠、空肠、回肠、结肠顺序依次下降, 其中十二指肠和空肠、回肠、结肠的  $K_a$  均存在显著差异 ( $P < 0.01$ ); 十二指肠和回肠、结肠的  $P$  也存在显著差异 ( $P < 0.01$ )。因此, 十二指肠为穿心莲提取物中穿心莲内酯的最佳吸收部位。

穿心莲提取物中脱水穿心莲内酯在不同肠段的吸收按回肠、空肠、结肠、十二指肠顺序依次下降, 其中回肠和十二指肠、空肠、结肠的  $K_a$  均存在显著差异 ( $P < 0.01$ ); 回肠与十二指肠、结肠的  $P$  也存在显著差异 ( $P < 0.01$ )。因此, 回肠为穿心莲提取物中脱水穿心莲内酯的最佳吸收部位。

表 3 穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯在大鼠小肠不同部位的吸收参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )  
Table 3 Absorption parameters of A and DDA in different parts of small intestine in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

吸收部位	穿心莲内酯		脱水穿心莲内酯	
	$K_a / h^{-1}$	$P / \%$	$K_a / h^{-1}$	$P / \%$
十二指肠	0.006 2 ± 0.002 2	26.330 3 ± 6.331 2	0.003 5 ± 0.000 6 <sup>##</sup>	17.785 0 ± 4.394 5 <sup>##</sup>
空肠	0.003 5 ± 0.001 1 <sup>**</sup>	19.828 2 ± 4.047 9	0.004 2 ± 0.000 2 <sup>##</sup>	23.749 6 ± 4.174 4
回肠	0.002 6 ± 0.000 2 <sup>**</sup>	13.815 0 ± 1.002 6 <sup>**</sup>	0.006 6 ± 0.001 5	28.897 0 ± 3.362 0
结肠	0.002 3 ± 0.000 4 <sup>**</sup>	12.087 1 ± 0.769 0 <sup>**</sup>	0.004 0 ± 0.000 9 <sup>##</sup>	21.759 0 ± 1.966 1 <sup>##</sup>

与十二指肠比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与回肠比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs duodenum; <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs ileum

### 2.9 穿心莲提取物与单体的肠吸收比较

按“2.4”项下方法考察单体穿心莲内酯 (85.56  $\mu\text{g/mL}$ , 与 222.78  $\mu\text{g/mL}$  穿心莲提取物中穿心莲内酯的量相当) 和单体脱水穿心莲内酯 (28.27  $\mu\text{g/mL}$ , 与 222.78  $\mu\text{g/mL}$  穿心莲提取物中脱水穿心莲内酯的量相当) 的大鼠在体肠吸收情况, 并与穿心莲提取物相比较, 结果见表 4。结果可知, 对于穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯, 穿心莲提取物的吸收速率和吸收量均优于单体, 其中单体与穿心莲提取物中穿心莲内酯的  $K_a$  和  $P$  均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 单体与提取物中脱水穿心莲内酯的  $K_a$  和  $P$  均存在

表 4 穿心莲提取物中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯及其单体大鼠在体肠吸收参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 4 Intestinal absorption parameters of A and DDA and monomer *in situ* in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

药物	$K_a / h^{-1}$	$P / \%$
单体		
穿心莲内酯	0.030 2 ± 0.003 0	47.518 5 ± 0.013 4
脱水穿心莲内酯	0.010 1 ± 0.002 6	31.604 6 ± 0.019 9
穿心莲提		
取物		
穿心莲内酯	0.031 7 ± 0.010 0	48.435 0 ± 1.506 5
脱水穿心莲内酯	0.012 7 ± 0.002 4*	38.041 6 ± 2.981 8*

与单体比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs monomer

显著差异 ( $P < 0.05$ )。因此,穿心莲提取物中其他成分对穿心莲内酯的吸收无明显影响,而穿心莲提取物中其他成分可能对脱水穿心莲内酯的吸收有一定的促进作用。

### 3 讨论

小肠在吸收药物的同时也会吸收水分,导致供试液体积不断减少,因此不能直接用测定出的药物浓度来计算剩余药量。酚红为大分子络合物,一般不被肠道吸收,利用酚红质量浓度的变化可以确定不同时刻供试液的体积,进而计算剩余药量,提高实验数据的准确性。因循环过程中存在水分吸收,导致酚红被浓缩,故每次补加的酚红量较取样量多 1.0 mL。

肠循环预试验中发现,肠灌注液 pH 值较低或者药物浓度较高时,灌注时间超过 2 h 大鼠的死亡率升高。因此选择 2 h 作为肠灌注实验的周期。

药物的  $pK_a$  值是影响药物生物利用度的因素之一,药物的酸、碱性与药物在体内的吸收、分布、代谢和疗效以及对皮肤、黏膜、肌肉的刺激性都相关。李清波<sup>[13]</sup>对穿心莲内酯的理化性质研究表明,其  $pK_a$  值为 6.92,在中性条件下穿心莲内酯溶解度和油水分配系数都较大。本研究表明 pH 6.38 时穿心莲内酯在肠内吸收最好,提示在进行剂型设计时,可通过调节相关介质的 pH 值,影响药物的解离状态,从而改善药物吸收。

本实验采用在体大鼠肠灌注模型研究了穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的肠道吸收行为与特征。结果表明,穿心莲提取物中穿心莲内酯主要在十二指肠吸收,而在空肠、回肠与结肠吸收则较少,但总的吸收量均不高。叶玲<sup>[14]</sup>综合应用 Caco-2 细胞模型、MDR1-MDCKII 细胞模型和大鼠在体灌注模型进行了穿心莲内酯的吸收特征研究,结果表明穿心莲内酯生物利用度低与肠吸收差、肠道酶代谢作用强和肝肠循环有关;进一步研究发现阻抗穿心莲内酯的生物利用度屏障是 P-糖蛋白 (P-gp) 和磺酸化酶。本实验结果穿心莲提取物中穿心莲内酯在其他肠道的吸收较差,而在十二指肠中吸收较好,可能与其存在较强的肠道酶代谢作用有关。穿心莲提取物中脱水穿心莲内酯的肠道吸收结果表明,脱水穿心莲内酯主要在回肠吸收,而在空肠、结肠与十二指肠的吸收则较少。Ye<sup>[15]</sup>等采用 Caco-2 细胞模型和大鼠在体肠灌注模型研究脱水穿心莲内酯在大鼠体内的肠道处置,结果脱

水穿心莲内酯的口服生物利用度为 11.92%,它在肠道中的吸收较好,不进行代谢,外排转运蛋白如 P-gp 和乳腺癌蛋白不参与脱水穿心莲内酯的细胞转运。

在分肠段考察中,穿心莲提取物中穿心莲内酯在结肠中的吸收与空肠、回肠接近,脱水穿心莲内酯在结肠中的吸收与十二指肠、空肠接近,两者在结肠中的吸收虽都不是最高,但考虑到药物在小肠的运时间约为 4~6 h,而在结肠的转运时间则为 30~40 h,因此,穿心莲提取物在结肠可能具有相当的吸收量,甚至超过小肠吸收。

许笑笑<sup>[16]</sup>对大鼠 ig 给予穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和穿心莲超分子提取物后血浆中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯浓度变化进行了研究,结果显示穿心莲内酯在血浆中的浓度一直较低,推测穿心莲内酯在血浆中具有吸收快、代谢快的特点。对于脱水穿心莲内酯,它在大鼠体内过程差异较大,且具有二次吸收峰,体内消除较慢,提示可能存在肝肠循环。大鼠体内脱水穿心莲内酯生物利用度在 ig 给予穿心莲超分子提取物后远大于 ig 给予脱水穿心莲内酯,说明穿心莲超分子提取物中的其他二萜内酯类成分有一部分可能转化为脱水穿心莲内酯或其他二萜内酯类成分对脱水穿心莲内酯的生物利用度的提高有促进作用。此结果与肠吸收时穿心莲提取物中其他成分对穿心莲内酯的吸收基本无影响,可能对脱水穿心莲内酯的吸收有一定促进作用的结论一致。

口服给药是临床最方便、最常用的给药方式。为减少剂型设计的盲目性,应对药物在胃肠道吸收转运情况进行研究,为剂型的开发提供科学依据。结合本研究的结果,口服后穿心莲提取物中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯在整个胃肠道都有吸收,因此将穿心莲提取物制成口服缓、控释制剂是可行的;另外穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯都有特定最佳吸收部位,适宜制成特定肠段黏附型定位释药系统。

### 参考文献

- [1] Wang T G, Liu B, Zhang W, *et al.* Andrographolide reduces inflammation-mediated dopaminergic neurodegeneration in mesencephalic neuron glia cultures by inhibiting microglial activation [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2004, 308(3): 975-983.
- [2] 许杰. 穿心莲内酯对牙周炎骨吸收的影响及其机理

- 的实验研究 [D]. 西安: 中国人民解放军第四军医大学, 2012.
- [3] Bvorgos R A, Seguel K, Pevez M, *et al.* Andrographolide inhibits IFN-gamma and IL-2 cytokine production and protects against cell apoptosis [J]. *Planta Med*, 2005, 71(5): 429-434.
- [4] 王峥涛. 穿心莲提取物及其化学成份在制备治疗病理性血管新生疾病的药物中的应用: 中国, 201010233410. 2 [P]. 2012-02-01.
- [5] Iruretagoyena M I, Tobar J A, Gonzalea P A, *et al.* Andrographolide interferes with T cell activation and reduces experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312(1): 366-372.
- [6] 李兴平, 李东晓, 邓文龙, 等. 脱水穿心莲内酯、穿心莲内酯的鼠胃肠吸收研究 [J]. *中药药理与临床*, 2011, 27(1): 14-15.
- [7] 李贞, 葛健, 孙峰, 等. 穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯在大鼠小肠中吸收动力学研究 [J]. *中国科技博览*, 2009, 30(2): 229-230.
- [8] 叶玲, 刘薇, 刘中秋, 等. 大鼠在体肠吸收穿心莲内酯的特征研究 [J]. *中草药*, 2010, 41(2): 219-222.
- [9] 廖琼峰, 姚媛, 谢智勇, 等. 穿心莲内酯在 Caco-2 细胞单层模型中的吸收机制 [J]. *中草药*, 2011, 42(7): 1363-1366.
- [10] 姚媛, 廖琼峰, 谢智勇, 等. 脱水穿心莲内酯在 Caco-2 细胞单层模型中的吸收机制 [J]. *中草药*, 2011, 42(6): 1154-1157.
- [11] 韩光, 许启泰, 刘蕾. 穿心莲超分子提取物、其制备方法及应用: 中国, ZL200510017655. 0 [P]. 2005-11-16.
- [12] 李景华. 超分子技术富集穿心莲有效成分的机制研究 [D]. 开封: 河南大学, 2008.
- [13] 李清波. 穿心莲内酯  $\beta$ -环糊精包合物的透皮吸收研究 [D]. 吉林: 吉林大学, 2009.
- [14] 叶玲. 外排转运蛋白和药物代谢酶在二萜类化合物生物利用度屏障的作用及其机制 [D]. 广州: 南方医科大学, 2012.
- [15] Ye L, Liang F G. Oral bioavailability and intestinal disposition of dehydroandrographolide in rats [J]. *J South Med Univ*, 2012, 32(8): 1074-1080.
- [16] 许笑笑. 穿心莲超分子提取物研究 [D]. 开封: 河南大学, 2008.