

(3-4); 173-176.

- [10] Conron M, Andreaskos E, Pantelidis P, *et al.* Nuclear factor-kappaB activation in alveolar macrophages requires IkappaB kinase-beta, but not nuclear factor-kappaB inducing kinase [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(7): 996-

1004.

- [11] Spitsin S V, Farber J L, Bertovich M, *et al.* Human- and mouse-inducible nitric oxide synthase promoters require activation of phosphatidylcholine-specific phospholipase C and NF-kappa B [J]. *Mol Med*, 1997, 3(5): 315-326.

阿魏酸在大鼠体内肠吸收动力学的研究

宋洪涛¹, 郭涛², 张跃新², 康鲁平¹, 谢彤³, 陈大为³, 何仲贵³

(1. 南京军区福州总医院 药剂科, 福建 福州 350025; 2. 沈阳军区总医院 药剂科,

辽宁 沈阳 110016; 3. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 研究阿魏酸在大鼠各肠各段的吸收动力学特征。方法 采用大鼠在体肠回流实验装置, 采用 UV 法和 HPLC 法分别测定肠循环液中酚红和阿魏酸的量。结果 阿魏酸在大鼠小肠各段的吸收速率常数 (k_a) 于阿魏酸不同质量浓度 (20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$) 时分别为 0.433 4、0.469 7、0.452 1、0.430 2 h^{-1} ; 不同 pH 值 7.8、6.8、5.4 时分别为 0.254 1、0.602 1、1.200 6 h^{-1} ; 在不同肠段十二指肠、空肠、回肠、结肠时分别为 0.151 2、0.178 4、0.168 7、0.066 9 h^{-1} 。结论 药物质量浓度对 k_a 无影响, 在 pH 值为 5.4~7.8, 随药物溶液 pH 值的减小, 药物 k_a 显著增加; 药物在十二指肠、空肠和回肠的吸收较好, 在结肠的吸收较差; 阿魏酸在肠道的吸收呈一级动力学过程, 吸收机制为被动扩散。

关键词: 阿魏酸; 吸收动力学; 肠

中图分类号: R945; R285.61

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)10-1514-04

Intestinal absorption kinetics of ferulic acid in rats *in vivo*

SONG Hong-tao¹, GUO Tao², ZHANG Yue-xin², KANG Lu-ping¹,

XIE Tong³, CHEN Da-wei³, HE Zhong-gui³

(1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China;

2. Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016, China;

3. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Objective** To investigate the absorption kinetics of ferulic acid at different intestine segments in rats. **Methods** The intestine in rats was cannulated for *in situ* recirculation. UV and HPLC were used to determine the concentrations of phenol red and ferulic acid, respectively. **Results** The absorption rate constants (k_a) at the concentration of 20, 50, 100, and 200 $\mu\text{g/mL}$ from intestine were 0.433 4, 0.469 7, 0.452 1, and 0.430 2 h^{-1} , respectively. k_a at pH value of 7.8, 6.8, and 5.4 from intestine were 0.254 1, 0.602 1, and 1.200 6 h^{-1} , respectively; k_a at duodenum, jejunum, ileum, and colon were 0.151 2, 0.178 4, 0.168 7, and 0.066 9 h^{-1} , respectively. **Conclusion** Concentration has no effect on the absorption kinetics. And within pH value 5.4—7.8, the absorption of the drug is increased when pH value of the drug solution is lowered. Ferulic acid is better absorbed at duodenum, jejunum, and ileum than at colon. The absorption of ferulic acid is a first-order process with the passive diffusion mechanism.

Key words: ferulic acid; absorption kinetics; intestine

阿魏酸普遍存在于当归、川芎等常用中药中, 它是一种非肽类内皮素受体竞争性拮抗剂, 具有抑制血小板聚集和血栓形成、抑制脂质过氧化、抗过敏等作用, 对心、脑、肝、肾及血管疾病有显著疗效^[1]。研

究中药有效成分口服时的吸收特性, 是提高中药口服给药的生物利用度和开发口服制剂的基础, 本实验选用大鼠在体灌流的方法建立了阿魏酸大鼠肠吸收模型, 采用 HPLC 法^[2]测定肠循环液中阿魏酸的

收稿日期: 2005-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30200363); 辽宁省博士启动基金资助项目 (2001102042)

作者简介: 宋洪涛 (1968—), 男, 山东肥城人, 博士, 副主任药师, 主要从事药剂学方面的研究。

Tel: (0591) 83707254 E-mail: sohoto@sohu.com

量,并对其吸收特性进行研究,以期为阿魏酸制剂的现代化研究提供生物药剂学依据。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂:阿魏酸对照品(中国药品生物制品鉴定所,批号 0773-9910);阿魏酸原料药(质量分数 99.4%,南通市华峰化工有限责任公司,批号 030401);酚红(Fabric Afemane,德国);戊巴比妥钠(上海试剂采购供应站分装厂);Kreb-ringer's 营养液(简称 K 氏液,自制,每 1 000 mL 内含 NaCl 7.80 g、KCl 0.35 g、NaHCO₃ 1.37 g、NaH₂PO₄ 0.32 g、MgCl₂ 0.02 g、葡萄糖 1.40 g);甲醇为色谱纯;其他试剂和试药均为分析纯。

1.2 仪器:高效液相色谱仪,配置 510 型泵,486 型紫外检测器(美国 Waters 公司);UV-2501 型紫外-可见分光光度计(日本岛津);pHS-3C 酸度计(上海伟业仪器厂);BT01-100 恒流泵(保定兰格恒流泵有限公司);电子恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.3 动物:雄性 Wistar 大鼠,体重(250±20)g,沈阳药科大学实验动物研究中心,合格证号:辽实合字 033 号。

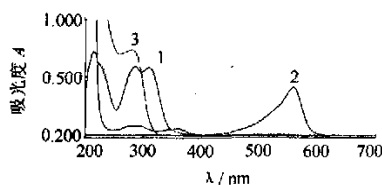
2 方法

2.1 酚红与阿魏酸测定波长及测定方法的选择:分别用 K 氏液配制适宜浓度的阿魏酸和酚红溶液;量取适量 K 氏液(不含阿魏酸及酚红)进行整肠段回流 3 h,即为肠循环 K 氏液。吸取上述溶液各 0.5 mL,分别置 10 mL 试管中,加 0.2 mol/L NaOH 溶液 5 mL,以 0.2 mol/L NaOH 溶液为空白,在 700~200 nm 进行紫外扫描,扫描图谱见图 1,结果表明,在酚红的吸收峰 558 nm 处,阿魏酸及肠循环 K 氏液均无吸收,而在阿魏酸的吸收峰 320 nm 处,酚红及肠循环 K 氏液均有吸收。故选择 UV 法在 558 nm 波长处测定酚红的量,采用 HPLC 法于 320 nm 波长处测定循环液中阿魏酸的量。

2.2 肠循环液中酚红的测定

2.2.1 酚红标准曲线的制备:精密移取用 K 氏液配制的质量浓度分别为 10、15、20、30、40、50 μg/mL 的酚红标准溶液各 0.5 mL,置 10 mL 刻度试管中,加 0.2 mol/L NaOH 溶液 5 mL。以 0.2 mol/L NaOH 溶液为空白,在 558 nm 处测定吸光度(A),以 A 对酚红质量浓度(μg/mL)进行线性回归,得标准曲线方程如下: $A=0.0176C+0.0143$, $r=0.9999$ ($n=3$)。

2.2.2 酚红的测定:从大鼠在体肠循环液不同时间



1-阿魏酸 2-酚红 3-肠循环 K 氏液
1-ferulic acid 2-phenol red
3-rat's intestine circulating K's solution

图 1 阿魏酸、酚红和肠循环 K 氏液紫外扫描图谱

Fig. 1 UV spectrum of ferulic acid, phenol red, and rat's intestine circulating K's solution

点的样品中,分别移取 0.5 mL,加入 0.2 mol/L NaOH 溶液 5 mL。以 0.2 mol/L NaOH 溶液为空白,在 558 nm 处测定 A。将 A 代入标准曲线方程求得酚红质量浓度。

2.3 肠循环液中阿魏酸的测定

2.3.1 色谱条件:色谱柱为 Kromacil C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 10 μm),天津天和色谱仪器有限公司;流动相为甲醇-0.5% 醋酸溶液(40:60),三乙胺调 pH 值为 4.9;柱温为室温;体积流量为:1.0 mL/min;检测波长为 320 nm;灵敏度为 0.01 AUFS;进样量为 20 μL。

2.3.2 对照品和供试品溶液制备及其色谱行为:精密量取酚红储备液(1 000 μg/mL) 2 mL,置 100 mL 量瓶中,用 K 氏液稀释至刻度,摇匀,进行整肠段回流 3 h,即为空白肠循环液;精密称取阿魏酸对照品适量,用含酚红 20 μg/mL 的 K 氏液溶解并稀释,摇匀,即得阿魏酸对照品溶液;精密称取阿魏酸原料药适量,用含酚红 20 μg/mL 的 K 氏液溶解并稀释,摇匀,进行整肠段回流 3 h 后,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,吸取续滤液作为供试品溶液。分别吸取 3 种溶液,在上述色谱条件下进行测定,色谱图见图 2。阿魏酸的保留时间约为 6 min,供试品溶液的主峰保留时间与阿魏酸对照品溶液一致,空白肠循环液无干扰。

2.3.3 阿魏酸肠循环液标准曲线的制备:精密称取阿魏酸对照品约 20 mg,置 100 mL 量瓶中,用含酚红 20 μg/mL K 氏液溶解并稀释至刻度,摇匀,制成 200 μg/mL 储备液。精密量取阿魏酸储备液适量,用含酚红的 K 氏液稀释成含阿魏酸 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、200.0 μg/mL 的系列溶液,按 2.3.1 项下色谱条件进样 20 μL,测定,以峰面积(Y)对阿魏酸质量浓度(X)进行线性回归。得回归方程为 $Y=67157X-168573$, $r=0.9998$ ($n=3$)。

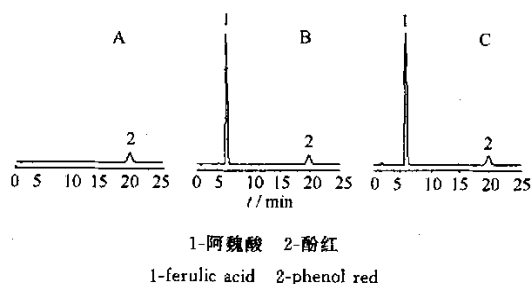


图2 空白肠循环液(A)、阿魏酸对照品溶液(B)和阿魏酸供试品溶液(C)的HPLC图

Fig. 2 HPLC chromatograms of blank intestine circulation solution (A), ferulic acid reference substance solution (B) and ferulic acid sample solution (C)

2.3.4 肠循环液中阿魏酸的测定:在不同时间点取大鼠在体肠循环液样品续滤液 20 μL ,按 2.3.1 项色谱条件测定。

2.3.5 阿魏酸在肠循环液中稳定性考察:为排除在大肠吸收实验过程中药物的化学稳定性因素对实验结果的影响,取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液于循环装置中,在相同实验条件下直接循环,分别于 0、1、2、4、6、8 h 取样,按 2.3.4 项下操作测定阿魏酸在循环液中的量的变化。

2.4 大鼠在体肠吸收实验

2.4.1 肠吸收实验方法^[3-5]:将实验前禁食 18 h 的大鼠称质量后,以 10 mg/mL 戊巴比妥钠溶液 0.4 $\text{mL}/100 \text{ g}$ ip 麻醉,麻醉后将大鼠背位固定于手术台上,保持 37 $^{\circ}\text{C}$ 体温,沿腹部正中中线切开腹部(约 3 cm)。对需要考察的部位,在两端剪切后插管,结扎,先用少量 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水冲洗肠段,再用空气将生理盐水排净。取阿魏酸供试液(预热至 37 $^{\circ}\text{C}$) 200 mL ,先以 5 mL/min 循环 10 min 后,将流速调为 2.5 mL/min ,分别回流后 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 取样 2 mL ,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,同时补充等量的恒温酚红溶液,分别用 HPLC 法和 UV 法测定阿魏酸和酚红的质量浓度。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 ,以 $\ln X$ 对取样时间作图得一直线,由直线的斜率求出吸收速率常数(k_a);由 3 h 剩余药量的变化值对零时间剩余药量的比求出 3 h 药物吸收百分率。

分段考察的各肠段区间如下:十二指肠段自幽门 1 cm 处开始往下 10 cm 止;空肠段自幽门 15 cm 起往下 10 cm 止;回肠段自盲肠上行 20 cm 开始往

下 10 cm 止;结肠段从盲肠后端开始往下 10 cm 止。整肠段考察自十二指肠上端起回到肠下端止。

2.4.2 药物质量浓度对肠吸收影响的考察:精密量取阿魏酸标准储备液(1 000 $\mu\text{g/mL}$) 4、10、20、40 mL ,置 200 mL 量瓶中,再分别精密加入酚红标准储备液(1 000 $\mu\text{g/mL}$) 4 mL ,用 K 氏液稀释至刻度,配制成 20.0、50.0、100.0、200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的供试液,分别进行整肠段回流实验,考察药物质量浓度对吸收的影响。

2.4.3 肠循环液 pH 值对肠吸收影响的考察:分别用稀 HCl 和稀 NaOH 调节 100 $\mu\text{g/mL}$ 供试液的 pH 值为 7.8、6.8、5.4,进行整肠段回流实验,考察 pH 值对药物吸收的影响。

2.4.4 大鼠肠道各区段吸收情况的考察:用 100 $\mu\text{g/mL}$ 供试液分别在十二指肠、空肠、回肠和结肠 4 个肠段回流,考察大鼠小肠各段的吸收情况。

3 结果

3.1 肠循环液中药物测定的方法学验证

3.1.1 方法回收率和精密性:配制低(2.0 $\mu\text{g/mL}$)、中(20 $\mu\text{g/mL}$)、高(200 $\mu\text{g/mL}$) 3 个质量浓度的肠循环液,分别进样测定峰面积,按 2.3.3 项下标准曲线方程求得药物质量浓度,求得方法回收率为 94.8%~99.7%。每个样品测定 5 次,连续测定 5 d,求得日内精密性小于 1.3%,日间精密性小于 2.1%。证明该方法适用于药物的测定。

3.1.2 阿魏酸在肠循环液中的稳定性:药物在肠循环液中的稳定性实验结果发现,阿魏酸在肠循环液中的量没有明显变化(RSD=1.54%)。

3.2 在体肠吸收动力学及影响因素

3.2.1 药物质量浓度对吸收的影响:考察了肠循环液中含有不同的质量浓度药物时,阿魏酸在肠的 k_a 与吸收百分率,结果见表 1。对不同药物质量浓度的 k_a 进行方差分析,结果表明,不同药物质量浓度下的 k_a 间无显著性差异。可知质量浓度对药物在肠的吸收的 k_a 没有影响。

表 1 不同质量浓度对阿魏酸肠吸收的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 Effect of various concentrations on ferulic acid absorption in rat intestines ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

阿魏酸 $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	k_a/h^{-1}	r	吸收率/%
20	0.433 4 $\pm$ 0.019 9	0.961 2	76.62 $\pm$ 6.45
50	0.469 7 $\pm$ 0.015 1	0.980 4	82.88 $\pm$ 3.03
100	0.452 1 $\pm$ 0.056 4	0.962 6	81.64 $\pm$ 7.38
200	0.430 2 $\pm$ 0.040 2	0.986 7	75.92 $\pm$ 1.91

3.2.2 肠循环液 pH 值对药物吸收的影响:阿魏酸在 pH 值分别为 5.4、6.8 及 7.8 肠循环液中的 k_a 和

吸收百分率结果见表2。对不同pH值条件下的 k_a 进行方差分析,结果表明, k_a 差异显著($P < 0.01$)。随着pH值增大,阿魏酸的 k_a 随之减小。

表2 不同pH值对阿魏酸肠吸收的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 2 Effect of cycling solution's pH value on ferulic acid absorption in rat intestines ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

pH	k_a/h^{-1}	r	吸收率/%
7.8	0.2541 ± 0.0236	0.9795	54.22 ± 1.37
6.8	0.6021 ± 0.0125	0.9706	76.15 ± 1.90
5.4	1.2006 ± 0.0561	0.9938	94.15 ± 0.35

3.2.3 各肠段药物吸收能力的比较:大鼠在体肠回流3h后,不同肠段的 k_a 和吸收百分率结果见表3。对各肠段 k_a 进行方差分析,结果显示结肠段与其他区段比较 k_a 显著小,且有统计学意义($P < 0.05$),十二指肠、空肠和回肠 k_a 无显著性差异。 k_a 和药物的吸收量按空肠、回肠、十二指肠、结肠的顺序下降。

表3 阿魏酸在大鼠不同肠段的吸收百分率和 k_a ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 3 Absorbability and k_a of ferulic acid at intestinal various segments in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

不同肠段	k_a/h^{-1}	r	吸收率/%
十二指肠段	0.1512 ± 0.0241	0.9719	37.76 ± 5.96
空肠段	0.1781 ± 0.0150	0.9607	44.48 ± 6.64
回肠段	0.1687 ± 0.0197	0.9843	38.17 ± 4.86
结肠段	0.0569 ± 0.0040	0.9872	20.03 ± 1.52

4 讨论

小肠在吸收过程中,不仅吸收药物,也吸收水分,导致供试液体积减少,故不能用直接测定药物质量浓度的方法计算剩余药量。加入定量的酚红可用于测定肠对水分的吸收,从而计算出肠循环液中药物质量浓度的变化。药物在肠循环液中的稳定性实验结果表明,阿魏酸在肠吸收实验过程中稳定,这就可以说明体外药物质量浓度的降低并非由于药物降解造成的,而是药物吸收入血的结果。

在不同质量浓度条件下,小肠 k_a 间无显著性差异,且以小肠内剩余药量的对数($\ln X$)对取样时间(t)作线性回归,所得直线的相关系数均大于0.9,可以初步确定阿魏酸在肠的吸收属于一级动力学过程,吸收机制为被动扩散。肠道的pH值对口服药物的吸收有影响,尤其对弱酸和弱碱性药物的影响更为明显,本实验结果表明随着肠循环液pH值增大,阿魏酸的 k_a 随之减小,这提示改变胃肠道的pH值会对阿魏酸的解离度和吸收产生影响进而影响药效的产生。药物在不同肠段的 k_a 具有显著性差异, k_a 和3h的吸收量按空肠、回肠、十二指肠、结肠的顺序下降,但阿魏酸仍在整个肠段有较好的吸收。

了解药物在胃肠道的吸收特性,可以减少剂型设计的盲目性,为剂型的开发提供科学依据。本实验已证实阿魏酸在结肠以上部位皆有良好吸收,吸收窗较长,适于制备成缓释给药系统。由于阿魏酸在结肠的吸收速度明显下降,故在设计阿魏酸的缓释制剂时,最好能延长此制剂在胃肠道上中部的滞留时间,并保证药物的有效吸收,从而提高阿魏酸的生物利用度,减少给药次数。

References:

- [1] Zhao T F, Deng H C. Advances of pharmacology studies on ferulic acid [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2001, 16(3): 135-136.
- [2] Liu H R. Summarize of determination methods on content of ferulic acid [J]. *China Pharm* (中国药业), 2004, 13(7): 74-75.
- [3] Lu B. *Experiments of Pharmaceutics* (药剂学实验) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [4] He Y X, Cheng G, Hao X H, et al. Study on the absorption kinetics of Nimodipine in rat's intestine *in situ* [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2004, 21(3): 177-180.
- [5] You B G, Yang M S, Fan Y L, et al. Studies on the intestinal absorption kinetics of Nitrendipine in rats [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2004, 39(3): 214-217.

欢迎订阅《中草药》杂志 2004 年增刊

为了加速中药现代化进程,促进中药产业的技术创新,我部编辑出版了以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容的增刊。该增刊共刊载论文120篇,总字数约50万字,每本定价60元,另加5.00元邮费。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅,款到寄刊。

编辑部地址:天津市南开区鞍山西道308号 邮编:300193 网址:www.tjipr.com

电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail: zcyzzbjb@tjipr.com