

• 药理与临床 •

人参皂苷 Rg_3 及人参皂苷 Rh_2 在肠道菌群失调大鼠体内的药动学研究郭跃龙¹, 钱 静^{2,3}, 狄留庆^{2,3*}, 康 安^{2,3*}

1. 江苏省省级机关医院 药剂科, 江苏 南京 210024

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

3. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 研究人参皂苷 Rg_3 及其脱糖基代谢物人参皂苷 Rh_2 在林可霉素诱导的肠道菌群失调大鼠体内的药动学特征。方法 建立同时测定大鼠血浆中人参皂苷 Rg_3 及人参皂苷 Rh_2 的 LC-MS/MS 分析方法, 并进行专属性、线性、回收率、准确度、精密度的考察。采用 ig 林可霉素诱导菌群失调大鼠模型, 测定正常大鼠及模型大鼠粪便含水量及 β -葡萄糖苷酶活性。正常大鼠及肠道菌群失调大鼠分别 ig 给予人参皂苷 Rg_3 (20 mg/kg), 于不同时间点眼眶取血测定血药浓度。结果 与对照组比较, 模型组大鼠粪便含水量显著增加 ($P < 0.01$), β -葡萄糖苷酶活性显著降低 ($P < 0.01$); 大鼠血浆中人参皂苷 Rg_3 的 C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 值均有所升高, 但不具有显著性差异; 而其活性代谢物人参皂苷 Rh_2 的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 值与对照组相比显著降低 ($P < 0.01$)。结论 肠道菌群失调对人参皂苷 Rg_3 的药动学行为影响较小, 但显著改变了其活性代谢物人参皂苷 Rh_2 的药动学, 可能与菌群失调后导致大鼠肠道菌大幅下降进而影响了人参皂苷 Rg_3 的肠道脱糖代谢有关。

关键词: 人参皂苷 Rg_3 ; 人参皂苷 Rh_2 ; 菌群失调; 药动学特征; β -葡萄糖苷酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)23-4198-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.014

Pharmacokinetic study on ginsenoside Rg_3 and ginsenoside Rh_2 in gut microbiota dysbiosis ratsGUO Yue-long¹, QIAN Jing^{2,3}, DI Liu-qing^{2,3}, KANG An^{2,3}

1. Department of Pharmacy, Jiangsu Province Official Hospital, Nanjing 210024, China

2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Jiangsu Provincial Traditional Chinese Medicine High Efficient Drug Delivery System Engineering Technology Research Center, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective The aim of this study was to explore the pharmacokinetics of ginsenoside Rg_3 and its deglycosylated metabolite, ginsenoside Rh_2 in lincomycin-induced gut microbiota dysbiosis rats after ig administration of ginsenoside Rg_3 . **Methods** An LC-MS/MS analytical method was developed and validated to detect ginsenoside Rg_3 and Rh_2 in plasma of rats. The method was validated by specificity, linearity, lower limits of quantification (LLOQ), precision, accuracy, matrix effect, recovery, and stability. Lincomycin (orally, 5 000 mg/kg, 7 d) was selected to induce gut microbiota dysbiosis. The fecal moisture contents and the β -D-glucosidase activity were also assessed in this study. And the plasma samples were collected and analyzed after ig administration of ginsenoside Rg_3 (20 mg/kg). **Results** The results indicated that this method could be used for the determination of the concentration of ginsenoside Rg_3 and Rh_2 in plasma of rats. The fecal moisture content in rats treated with lincomycin was significantly increased ($P < 0.01$) and the β -D-glucosidase activity was decreased ($P < 0.01$) compared with the control rats. The $AUC_{0-\infty}$ and C_{max} in gut microbiota dysbiosis rats were increased, while the AUC_{0-t} and C_{max} of its active metabolite, ginsenoside Rh_2 were significantly decreased ($P < 0.01$) compared with normal rats. **Conclusion** The pharmacokinetic profile of ginsenoside Rg_3 and Rh_2 is changed in gut microbiota dysbiosis rats, which partly relates to the decreased β -D-glucosidase activity.

Key words: ginsenoside Rg_3 ; ginsenoside Rh_2 ; gut microbiota dysbiosis; pharmacokinetics characteristic; β -glucosidase

收稿日期: 2016-06-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202983); 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 江苏高校品牌专业建设工程资助项目 (PPZY2015A070)

作者简介: 郭跃龙, 副主任中药师, 研究方向为中药药动学。Tel: (025)83712838 E-mail: guoyuelong_64@163.com

*通信作者 康 安, 博士, 讲师, 研究方向为生物药剂学与药动学。Tel: (025)85811053 E-mail: kanga@njucm.edu.cn

狄留庆, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药生物药剂学与药动学。Tel: (025)85811512 E-mail: diliuqing@hotmail.com

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 是我国传统名贵药材,具有大补元气、固脱、生津、安神和益智等作用^[1]。研究表明人参皂苷是人参中主要的活性成分,根据化学结构可分为3类:原人参二醇型皂苷、原人参三醇型皂苷及齐墩果酸型皂苷^[2]。人参皂苷 Rg_3 为原人参二醇型皂苷,是人参中的稀有皂苷,具有多种药理学活性,如抗肿瘤、抑制血管生成、增强免疫功能、降血糖、抗炎等^[3-5]。药动学研究表明人参皂苷 Rg_3 的口服生物利用度较低,其中体内主要可被胃酸及肠道菌群水解为人参皂苷 Rh_2 及原人参二醇,进而吸收入血,发挥其药效作用。研究表明人参皂苷 Rg_3 的抗炎及抗肿瘤作用与其体内生成的人参皂苷 Rh_2 密切相关^[3,6]。

正常情况下,肠道菌群与宿主相互依存、相互制约,维持一种动态的生态平衡,一旦受到内外环境变化的影响,敏感肠道菌就会被抑制,未被抑制的肠道菌就会快速繁殖引起菌群失调,形成破坏生理性、病理性组合的现象^[7]。肠道菌群失调逐渐成为肿瘤、糖尿病、肥胖症等疾病的重要临床特征,研究表明肠菌紊乱失调可能引起经肠菌脱糖基代谢进而发挥药理活性的药物疗效发生改变,尤其是糖苷类成分(如人参皂苷)^[2,8-9]。本研究以人参皂苷 Rg_3 作为模型药物,通过比较正常大鼠与肠道菌群失调模型大鼠体内人参皂苷 Rg_3 及其脱糖基代谢产物人参皂苷 Rh_2 的药动学差异,以期对皂苷类成分在菌群失调状态下的药动学研究以及人参皂苷 Rg_3 的临床合理使用提供参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

人参皂苷 Rg_3 、 Rh_2 对照品(吉林大学有机化学

教研室,质量分数>98%,批号 201506-2);人参皂苷 Rg_1 对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110703-201322);盐酸林可霉素(百灵威科技有限公司批号 L0166-201408);甲醇、乙腈购自德国 Merck 公司;醋酸乙酯、正丁醇购自南京化学试剂有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Thermo 快速液相色谱系统(美国 Thermo 公司);TSQ 三重四极杆质谱仪(赛默飞世尔科技公司);SF-400 A 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);微量高速冷冻离心机(美国 Thermo Scientific 公司);SpeedVac 离心浓缩仪(美国 Thermo Scientific 公司);MilH-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.3 动物

SD 大鼠,12 只,体质量 200~220 g,雄性,由南通大学动物中心提供,合格证号 SCXK-2008-0010。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 BDS Hypersil C_{18} (50 mm×2.1 mm, 2.4 μ m);流动相为乙腈-1 mmol/L 甲酸铵水溶液(85:15),体积流量为 0.30 mL/min;柱温 40 $^{\circ}$ C,进样量 2 μ L。

2.2 质谱条件

离子源为 ESI 源;检测方式为负离子检测;电子能量为 70 eV;ESI 源温度为 255 $^{\circ}$ C;色谱质谱接口温度为 300 $^{\circ}$ C。各待测成分及内标检测参数见表 1。

表 1 人参皂苷 Rg_3 、人参皂苷 Rh_2 和人参皂苷 Rg_1 的质谱检测参数

Table 1 MRM detecting parameters of ginsenosides Rg_3 , Rh_2 , and Rg_1

成分	分子式	相对分子质量	m/z	碰撞能/V	S-Lens
人参皂苷 Rg_3	$C_{42}H_{72}O_{13}$	784.5	783.3→621.4	26	237.10
人参皂苷 Rh_2	$C_{36}H_{62}O_8$	622.4	667.4→621.4	21	116.72
人参皂苷 Rg_1 (内标)	$C_{42}H_{72}O_{14}$	800.4	799.4→653.5	32	237.00

2.3 对照品溶液与内标溶液的制备

2.3.1 人参皂苷储备液的制备 分别精密称取人参皂苷 Rg_3 和 Rh_2 对照品适量,加入甲醇定容于 10 mL 量瓶中,经逐步稀释成质量浓度为 10.0、9.3 μ g/mL 的储备液,置于 4 $^{\circ}$ C 避光保存。临用前,用甲醇依次按倍数将储备液稀释至所需浓度,即得。

2.3.2 内标储备液的制备 精密称取人参皂苷 Rg_1

对照品适量,加入甲醇溶解,配制成 1 mg/mL 的内标母液,置于 4 $^{\circ}$ C 避光保存。临用前稀释成 10 μ g/mL 的内标溶液,即得。

2.4 血浆样品处理方法

取 80 μ L 血浆样品置于 1.5 mL EP 管中,加入 10 μ g/mL 人参皂苷 Rg_1 内标溶液 10 μ L,涡旋 30 s,再加入 1 mL 的醋酸乙酯,涡旋 3 min,6 000 r/min

离心 5 min, 取 800 μL 上清, 于 45 $^{\circ}\text{C}$ 离心浓缩仪中挥干, 进样前加入 80 μL 流动相复溶, 14 000 r/min 离心 10 min, 取上清进样。

2.5 林可霉素诱导的菌群失调大鼠模型的建立及药动学研究

将健康雄性 SD 大鼠随机分为 2 组, 即对照组和菌群失调组, 每组 6 只。菌群失调组大鼠每天 ig 给予盐酸林可霉素 (5 000 mg/kg, 溶于生理盐水中), 每天 1 次, 对照组每天 ig 等体积生理盐水, 连续造模 1 周。给药前收集新鲜粪便, 用于后续粪便含水量及 β -葡萄糖苷酶活性测定。

造模第 8 天, 进行药动学实验, 实验前 12 h 禁食不禁水。对照组及模型组大鼠分别 ig 人参皂苷 Rg_3 (20 mg/kg), 分别于给药前及给药后 0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、8、12、24 h 眼底静脉丛取血约 200 μL , 置于肝素化 EP 管中, 3 000 r/min 离心 10 min, 转移 80 μL 血浆于 EP 中, -20°C 保存。临测前, 按“2.4”项下方法处理血浆样品, LC-MS/MS 测定血浆中人参皂苷 Rg_3 及人参皂苷 Rh_2 的质量浓度。

利用 DAS 3.2.6 软件对血药浓度数据进行分析, 采用非房室模型方法计算统计矩参数, t 检验比较组间差异。

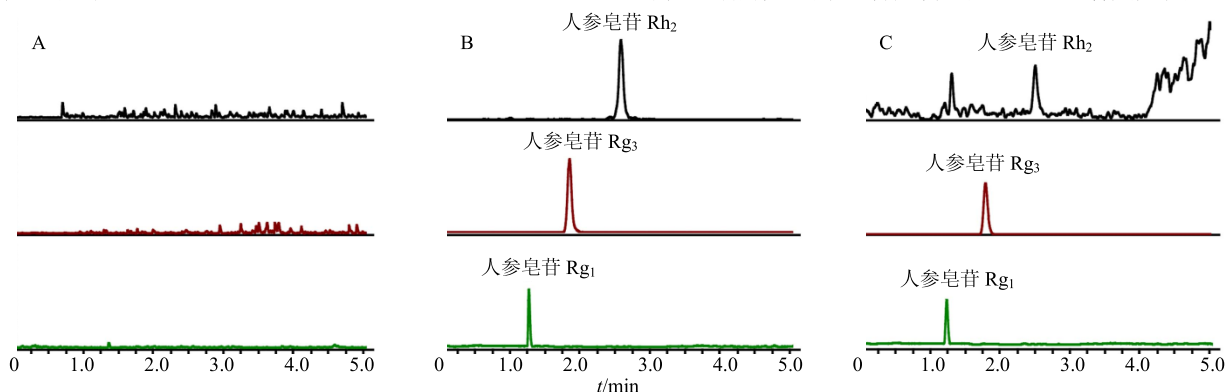


图1 大鼠空白血浆 (A)、空白血浆加入内标和混合对照品 (B) 和 ig 20 mg/kg 人参皂苷 Rg_3 6 h 后的大鼠血浆样品 (C) 典型 MRM 色谱图

Fig. 1 Typical MRM chromatograms of blank plasma of rats (A), blank plasma of rats + internal standard + mixed references substances (B), and plasma sample of rats after 6 h in ig administration with ginsenoside Rg_3 20 mg/kg (C)

3.1.2 标准曲线和定量限 将混合对照品的储备液按倍数稀释成不同质量浓度的混合对照品溶液。将 8 μL 不同质量浓度的混合对照品溶液加入 EP 管, 挥干溶剂, 加入大鼠空白血浆 80 μL , 振荡 30 s, 按“2.4”项下血浆样品处理方法处理样品, 检测。

2.6 β -葡萄糖苷酶活性测定

取 0.2 g 大鼠新鲜粪便加入 3.8 mL 冰 PBS 溶液中充分混悬。4 $^{\circ}\text{C}$ 下 200 r/min 离心 5 min, 取上清即为待测菌液。 β -葡萄糖苷酶活性测定采用的反应体系为 0.4 mL 的 2 mmol/L 对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷, 0.4 mL 的 PBS 以及 0.2 mL 的菌液。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下水浴, 20 min 后用 1 mL 0.5 mol/L 的 NaOH 中止反应, 3 000 $\times$ g 离心 10 min, 在 405 nm 下测定产物对硝基苯酚吸光度值。用 BCA 蛋白浓度测定菌液中的蛋白浓度。酶活力单位 (U/mg) 定义为在上述条件下每分钟催化生成 1 μmol 产物对硝基苯酚所需的酶量为 1 个单位。

3 结果

3.1 方法学考察结果

3.1.1 专属性实验 取大鼠空白血浆、大鼠空白血浆加入对照品和内标和正常大鼠口服 20 mg/kg 人参皂苷 Rg_3 6 h 后的血浆样品, 按“2.4”项下血浆样品处理方法处理样品, 采用上述建立的 LC-MS/MS 分析方法检测。结果表明在“2.1”项色谱条件下, 血浆中内源性杂质与待测成分人参皂苷 Rg_3 、 Rh_2 及内标人参皂苷 Rg_1 均有较好的分离, 内源性杂质不干扰上述待测组分的检测。人参皂苷 Rg_3 、人参皂苷 Rh_2 及内标的保留时间分别为 1.81、2.53、1.24 min, 结果表明该方法专属性良好, 各成分的 MRM 色谱图见图 1。

用检测到的人参皂苷 Rg_3 、 Rh_2 与内标的峰面积之比 (Y) 与质量浓度 (X) 进行线性回归。待测化合物的定量限按信噪比 $S/N=10$ 计算, 人参皂苷 Rg_3 的回归方程为 $Y=0.0065X-0.0012$, $R^2=0.9994$, 线性范围为 2.0~1 000.0 ng/mL, 定量下限为 2.00

ng/mL; 人参皂苷 Rh₂ 回归方程为 $Y=0.004\ 9\ X-0.000\ 8$, $R^2=0.992\ 5$, 线性范围为 1.86~930.0 ng/mL, 定量下限为 1.86 ng/mL。

3.1.3 精密度考察 配制含不同质量浓度人参皂苷 Rg₃ 和 Rh₂ 的低、中、高 3 个质量浓度的质控样品, 按“2.4”项下血浆样品处理方法处理样品, LC-MS/MS 进行检测, 结果进行方差分析, 考察批内、批间精密度, 结果见表 2。

3.1.4 提取回收率与基质效应 以空白血浆配制含不同质量浓度人参皂苷 Rg₃ 和 Rh₂ 的低、中、高 3 个质量浓度(同表 2 中质量浓度)的质控样品, 按“2.4”项下血浆样品处理方法处理样品, LC-MS/MS 进行检测, 以测得人参皂苷 Rg₃ 和 Rh₂ 的质量浓度与配制质量浓度的比值, 计算各人参皂苷低、中、高 3 个浓度质控样品的提取回收率, 结果表明人参皂苷 Rg₃ 和 Rh₂ 的低、中、高 3 个浓度质控样品的提取回收率较为稳定, 人参皂苷 Rg₃ 的提取回收率在 62.48%~66.49%, 人参皂苷 Rh₂ 的提

取回收率在 77.31%~78.52%。

取 80 μL 正常空白血浆, 按“2.4”处理方法处理血浆样品, 加入流动相及对照品, 配制与质控样品质量浓度相对应的样品, LC-MS/MS 测得峰面积 (A_1)。用流动相配制含高、中、低质量浓度的对照品进样并分析得到峰面积 (A_2)。基质效应为 A_2/A_1 , 结果表明人参皂苷 Rg₃ 的基质效应在 91.48%~97.14%, 人参皂苷 Rh₂ 的基质效应在 98.78%~106.21%, 均符合生物样品分析的要求。

3.1.5 稳定性考察 取 80 μL 正常大鼠空白血浆加入不同质量浓度的混合对照品溶液配制高、中、低 3 个质量浓度的质控样品, 质控样品分别在 4 种条件下进行稳定性考察, 包括室温下放置 12 h、反复冻融 3 次、-20 ℃下放置 4 周、在 4 ℃的自动进样器内放置 24 h。按“2.4”项下血浆样品处理方法处理, LC-MS/MS 进行检测。结果显示(表 3), 各待测成分在上述条件下均能保持良好的稳定性。

表 2 人参皂苷 Rg₃、Rh₂ 在大鼠血浆中批内和批间精密度 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Intra-batch and inter-batches accuracy of ginsenoside Rg₃ and Rh₂ in plasma of rats ($\bar{x} \pm s$)

成分	$\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	批内精密度 ($n=6$)		批间精密度 ($n=18$)	
		测得 $\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得 $\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%
人参皂苷 Rg ₃	3.00	2.78 ± 0.23	8.27	3.14 ± 0.20	6.37
	50.00	52.42 ± 6.86	13.09	51.78 ± 4.37	8.44
	800.00	780.49 ± 34.35	4.40	695.82 ± 53.55	7.69
人参皂苷 Rh ₂	2.00	2.15 ± 0.17	7.91	1.91 ± 0.17	8.91
	50.00	48.72 ± 2.73	5.66	52.14 ± 2.65	5.08
	750.00	771.28 ± 19.49	2.53	765.68 ± 36.44	4.76

表 3 人参皂苷 Rg₃、Rh₂ 在大鼠血浆中的稳定性 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Stability of ginsenoside Rg₃ and Rh₂ in plasma of rats ($\bar{x} \pm s$)

成分	$\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	室温下放置 12 h ($n=5$)		-20 ℃下放置 4 周 ($n=5$)		反复冻融 3 次 ($n=5$)		4 ℃自动进样器内放置 24 h ($n=5$)	
		测得 $\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得 $\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得 $\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得 $\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%
人参皂苷 Rg ₃	3.00	3.14 ± 0.32	10.19	3.19 ± 0.21	6.58	2.87 ± 0.14	4.88	3.04 ± 0.11	3.62
	50.00	55.48 ± 4.17	7.52	52.47 ± 3.89	7.41	53.43 ± 2.68	5.02	48.44 ± 6.21	12.82
	800.00	820.42 ± 47.16	5.75	809.43 ± 18.67	2.31	832.47 ± 19.62	0.96	768.59 ± 21.34	2.78
人参皂苷 Rh ₂	2.00	2.17 ± 0.19	8.76	2.07 ± 0.14	6.76	1.88 ± 0.14	2.36	2.08 ± 0.11	5.29
	50.00	52.43 ± 4.83	9.21	53.14 ± 2.19	4.12	47.62 ± 3.08	6.47	48.67 ± 1.87	3.84
	750.00	771.82 ± 19.57	2.54	741.25 ± 21.24	2.86	761.38 ± 16.84	2.21	768.63 ± 48.21	6.27

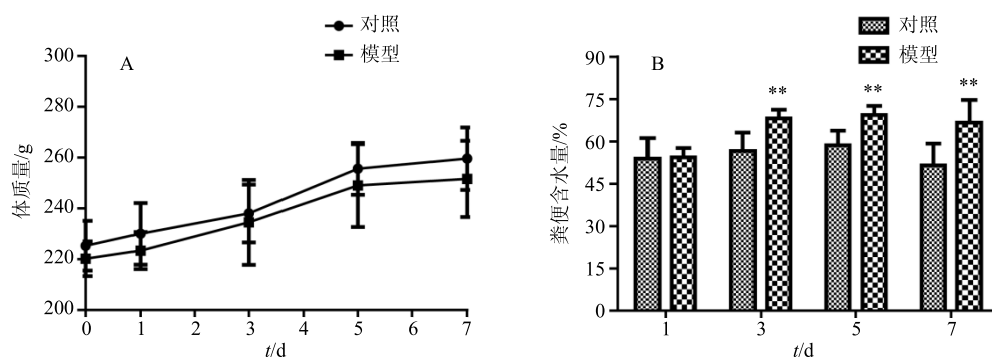
3.2 模型的确定

造模期间对照组、模型组大鼠体质量变化见图 2-A, 结果表明林可霉素不影响大鼠体质量变化。造模第 3 天, 模型组大鼠粪便含水量较对照组显著增加 ($P<0.01$); 造模第 5、7 天模型组的粪便含水量亦显著增加 ($P<0.01$), 结果见图 2-B。提示林

可霉素导致明显的菌群失调, 大鼠粪便含水量显著增加, 动物出现一定程度的腹泻, 提示造模成功。

3.3 药动力学实验结果

3.3.1 药-时曲线 对照组与模型组大鼠单剂量 ig 人参皂苷 Rg₃ (20 mg/kg), 检测到的人参皂苷 Rg₃、Rh₂ 经计算得到的血药浓度-时间曲线见图 3。



与对照组比较: ** $P < 0.01$, 下图同

** $P < 0.01$ vs control group, following figures are same

图2 对照组和模型组大鼠体质量 (A) 及粪便含水量 (B) 变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 2 Body weight changes (A) and fecal moisture contents (B) between control and gut microbiota dysbiosis rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

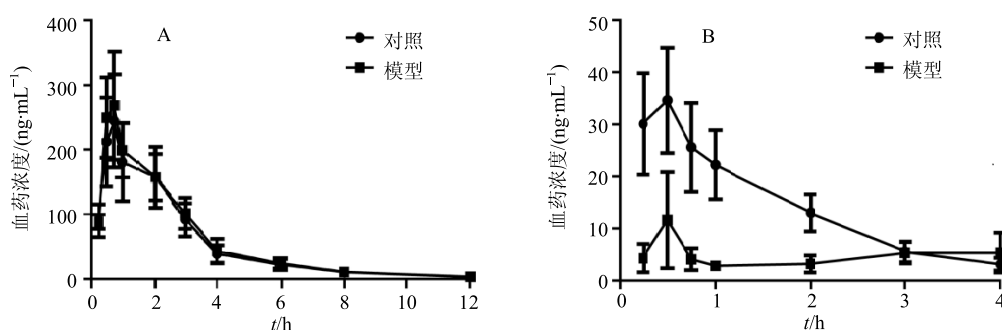


图3 正常大鼠及菌群失调大鼠 ig 20 mg/kg 人参皂苷 Rg_3 后人参皂苷 Rg_3 (A) 和人参皂苷 Rh_2 (B) 平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 3 Plasma concentration-time curves of ginsenoside Rg_3 (A) and ginsenoside Rh_2 (B) in control and gut microbiota dysbiosis rats following ig administration of ginsenoside Rg_3 20 mg/kg ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.3.2 药动学参数 利用 DAS 3.2.6 软件和非房室模型方法对其药动学参数进行计算, 采用 t 检验统计差异。表 4 为人参皂苷 Rg_3 的主要药动学参数。药动学参数结果表明, 模型组较对照组, 人参皂苷 Rg_3 大鼠体内的峰浓度 (C_{max})、药时曲线下面积 ($AUC_{0-\infty}$) 有所升高, 但不具有统计学差异。

人参皂苷 Rh_2 在对照组及模型组大鼠体内的药-时曲线如图 3-B 所示, 从图中可知, 模型组大鼠体内人参皂苷 Rh_2 血药浓度远低于对照组, 对照组人参皂苷 Rh_2 的 C_{max} 为 (34.59 ± 10.11) ng/mL, 模型组人参皂苷 Rh_2 的 C_{max} 为 (13.22 ± 7.84) ng/mL。此外模型组大鼠体内人参皂苷 Rh_2 的 AUC_{0-t} [(98.57 ± 46.74) h· μ g/L] 显著小于对照组 AUC_{0-t} [(436.83 ± 126.80) h· μ g/L]。提示菌群失调大鼠 ig 给予人参皂苷 Rg_3 后, 其活性代谢物人参皂苷 Rh_2 的体内暴露量显著降低。

3.4 β -葡萄糖苷酶活性测定

进一步检测对照组及模型组大鼠粪便中 β -葡

表4 正常大鼠及菌群失调大鼠 ig 20 mg/kg 人参皂苷 Rg_3 后人参皂苷 Rg_3 的药动学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 4 Main pharmacokinetic parameters of ginsenoside Rg_3 in control and gut microbiota dysbiosis rats after ig administration of ginsenoside Rg_3 20 mg/kg ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

参数	单位	对照	模型
AUC_{0-t}	μ g·L ⁻¹ ·h	639.934 ± 133.959	686.938 ± 122.559
$AUC_{0-\infty}$	μ g·L ⁻¹ ·h	651.321 ± 135.728	697.933 ± 123.198
MRT_{0-t}	h	2.541 ± 0.294	2.499 ± 0.166
$MRT_{0-\infty}$	h	2.771 ± 0.267	2.704 ± 0.158
$t_{1/2}$	h	2.343 ± 0.362	2.237 ± 0.344
t_{max}	h	0.750 ± 0.000	0.650 ± 0.137
$V_{z/F}$	L·kg ⁻¹	107.634 ± 28.426	95.859 ± 26.542
$CL_{z/F}$	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	31.879 ± 7.097	29.466 ± 5.758
C_{max}	μ g·L ⁻¹	244.169 ± 71.350	295.385 ± 64.044

萄糖苷酶活性, 图 4 结果表明 ig 给予林可霉素 1、3、7 d 后, 模型组大鼠粪便中 β -葡萄糖苷酶活性显著降低。提示林可霉素抑制或杀灭肠道菌群, 进而

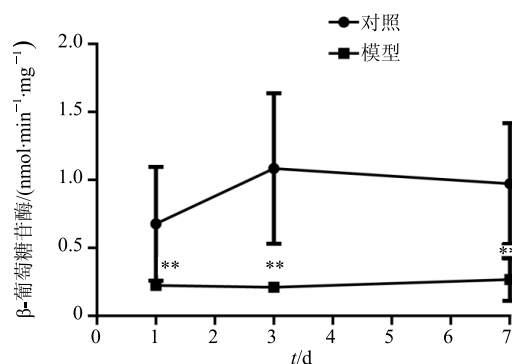


图4 对照组和模型组大鼠粪便中β-葡萄糖苷酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 4 Fecal β-D-glucosidase activity in normal rats and model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

导致β-葡萄糖苷酶活性显著减低。

4 讨论

肠道菌群失调是指机体受到饮食、药物、精神压力等因素的影响下,肠菌在种类、数量、比例、定位和生物特性上发生较大的变化。对于口服吸收药物,尤其是皂苷及黄酮苷类药物,菌群失调会影响药物在体内代谢处置,改变其药动学特性,进而影响其效应的发挥^[8]。本实验选取人参稀有皂苷Rg₃为模型药物,系统研究其在菌群失调大鼠体内的药动学。

本实验建立了同时测定生物样品中人参皂苷Rg₃及其代谢产物人参皂苷Rh₂的LC-MS/MS分析方法,经方法学考察,人参皂苷Rg₃及人参皂苷Rh₂在一定质量浓度范围内线性关系良好,精密度与准确度实验结果表明该法符合生物样品分析的要求,此外该法的稳定性、基质效应均符合要求,可用于人参皂苷Rg₃及其脱糖基代谢产物人参皂苷Rh₂在大鼠体内的药动学研究。

本实验用易导致肠道菌群失调的药物林可霉素ig给予1周,诱导菌群失调大鼠模型。给予林可霉素后,可见大鼠体表毛色粗糙,但对体质量未见影响。通过测定大鼠粪便含水量,可见模型组大鼠粪便含水量显著增加,此外部分动物出现较为严重的腹泻,提示菌群失调大鼠模型造模成功^[10]。进一步测定大鼠粪便中β-葡萄糖苷酶活性,大鼠粪便中β-葡萄糖苷酶活性与对照组相比显著降低。提示ig林可霉素后,大鼠肠道菌群遭到严重破坏,而β-葡萄糖苷酶在介导人参皂苷Rg₃的脱糖基代谢中发挥重要作用。通过药动学研究结果提示,血浆中人参皂苷Rg₃的C_{max}、AUC_{0-∞}值都有所升高,但无显著性差异;对照组大鼠血浆中代谢产物人参皂苷Rh₂

的血药浓度显著高于模型组大鼠,此外对照组大鼠血浆中人参皂苷Rh₂ AUC_{0-t}显著高于模型组大鼠。提示人参皂苷Rg₃的体内脱糖基代谢在菌群失调组大鼠被显著抑制,这与大鼠粪便中β-葡萄糖苷酶活性测定结果吻合。

由上述结果可知,在林可霉素诱导的菌群失调大鼠体内,大鼠粪便中β-葡萄糖苷酶活性降低,进而影响人参皂苷Rg₃在肠道菌群中的脱糖基代谢,改变人参皂苷Rg₃及其脱糖基代谢产物人参皂苷Rh₂吸收入血后的药动学行为。

参考文献

- [1] Kang A, Hao H, Zheng X, *et al.* Peripheral anti-inflammatory effects explain the ginsenosides paradox between poor brain distribution and anti-depression efficacy [J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 100.
- [2] Kang A, Zhang S J, Shan J J, *et al.* Gut microbiota-mediated deglycosylation of ginsenoside Rb-1 in rats: *in vitro* and *in vivo* insights from quantitative ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(15): 6173-6181.
- [3] Aziz F, Wang X, Liu J, *et al.* Ginsenoside Rg₃ induces FUT4-mediated apoptosis in *H. pylori* CagA-treated gastric cancer cells by regulating SP1 and HSF1 expressions [J]. *Toxicol In Vitro*, 2016, 31: 158-166.
- [4] 赵琛, 苏光悦, 赵余庆. 人参皂苷及其衍生物抗结肠癌作用及机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(16): 2477-2483.
- [5] 吴胜斌, 王应灯. 人参皂苷Rg₃对H₂O₂诱导人肾小球系膜细胞氧化应激损伤的保护作用及其机制研究 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(12): 1437-1442.
- [6] 康安, 钱静, 单进军, 等. 人参总皂苷主要成分大鼠体内药动学研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(20): 3045-3050.
- [7] Sharon G, Garg N, Debelius J, *et al.* Specialized metabolites from the microbiome in health and disease [J]. *Cell Metab*, 2014, 20(5): 719-730.
- [8] Ruan J Q, Li S, Li Y P, *et al.* The presystemic interplay between gut microbiota and orally administered calycosin-7-O-β-D-glucoside [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(10): 1601-1611.
- [9] Jang S E, Jung I H, Joh E H, *et al.* Antibiotics attenuate anti-scratching behavioral effect of ginsenoside Re in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 142(1): 105-112.
- [10] 康安, 张圣洁, 单进军, 等. 人参皂苷Rb₁在林可霉素诱导的菌群失调大鼠体内的药代动力学研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2016, 47(2): 182-187.