

多成分环境下甘草次酸肠吸收行为的研究

董月柳, 李雪莲, 陈江鹏, 孙慧娟, 潘 孟, 王子禹, 董 玲^{1*}

北京中医药大学, 北京 100102

摘要: **目的** 考察多成分环境下甘草次酸在大鼠肠道中的吸收特性。**方法** 采用大鼠在体单向肠灌注模型考察多成分环境下甘草次酸在大鼠肠道中的吸收情况, HPLC 法测定肠灌注收集液中甘草次酸的量, 计算甘草次酸在大鼠回肠中的有效渗透系数 (P_{eff})、吸收速率常数 (K_a) 和吸收分数 (F_a), 考察甘草次酸不同质量浓度、P-糖蛋白 (P-gp) 抑制剂维拉帕米, 以及不同成分配伍对甘草次酸肠吸收的影响。**结果** 10、20 $\mu\text{g/mL}$ 甘草次酸灌注液在回肠段的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值无显著差异, 加入 100 $\mu\text{mol/L}$ 维拉帕米后, 10 $\mu\text{g/mL}$ 甘草次酸的 P_{eff} 、 F_a 值增大, 说明甘草次酸可能为 P-gp 的底物; 2 种成分配伍后, 黄芩苷对甘草次酸肠吸收的影响最明显, 使甘草次酸的 P_{eff} 值由 $(4.05 \pm 0.78) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$ 降低到 $(2.18 \pm 0.63) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$, 减少甘草次酸的渗透。而葛根素、小檗碱对甘草次酸渗透性无明显影响。3 种成分配伍的实验结果表明, 甘草次酸与葛根素、小檗碱配伍后, 渗透系数未发生改变, 甘草次酸与葛根素、黄芩苷配伍后渗透系数发生改变, 但变化不明显, 甘草次酸与黄芩苷、小檗碱配伍后, 渗透性降低, P_{eff} 值由 $(4.05 \pm 0.78) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$ 降低到 $(1.35 \pm 0.69) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$, 黄芩苷对甘草次酸肠吸收影响最明显。**结论** 甘草次酸在大鼠回肠段能较好地被吸收, 一定范围内的药物质量浓度对甘草次酸的 P_{eff} 和 K_a 无明显影响, 初步确定其吸收机制为被动扩散, 甘草次酸是 P-gp 的底物, 且存在转运蛋白饱和现象; 黄芩苷对甘草次酸的吸收影响显著, 可能是通过诱导 P-gp 的表达, 增加了甘草次酸从细胞内到细胞外的外排, 降低了甘草次酸的渗透, 影响其吸收。

关键词: 甘草次酸; 多成分环境; 在体单向肠灌注; P-糖蛋白; 肠渗透

中图分类号: R285.62 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)16-3396-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.16.023

Research on intestinal permeability of glycyrrhetic acid in multicomponent environment

DONG Yue-liu, LI Xue-lian, CHEN Jiang-peng, SUN Hui-juan, Pan Meng, WANG Zi-yu, DONG Ling

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: Objective To investigate the characteristics of intestinal absorption of glycyrrhetic acid in rats in the multicomponent environment. **Methods** The effect of multicomponent environment on intestinal absorption of glycyrrhetic acid was investigated in rat model of in situ single-pass intestinal perfusion, HPLC was used to determine the concentration of glycyrrhetic acid in intestinal perfusion fluid samples, the effective permeability coefficient (P_{eff}), absorption rate constant (K_a), and absorption fraction (F_a) of glycyrrhetic acid in rats ileum were calculated, the effects of glycyrrhetic acid with different mass concentration and P-glycoprotein (P-gp) inhibitor verapamil, as well as the compatibility of different components on intestinal absorption of glycyrrhetic acid were examined. **Results** The P_{eff} , K_a , and F_a values of glycyrrhetic acid perfusion liquid (10 and 20 $\mu\text{g/mL}$) in the ileum segment had no significant difference. Added with 100 $\mu\text{mol/L}$ verapamil, P_{eff} and F_a values of 10 $\mu\text{g/mL}$ glycyrrhetic acid increased, which illustrated that the glycyrrhetic acid might be the substrate of P-gp; In two components compatibility, the effect of baicalin on absorption of glycyrrhetic acid was the most obvious, P_{eff} value of glycyrrhetic acid was from $(4.05 \pm 0.78) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$ to $(2.18 \pm 0.63) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$, and the penetration of glycyrrhetic acid was reduced. The puerarin consociation baicalin and berberine had no obvious effect on permeability of glycyrrhetic acid. In the three components compatibility condition, the experimental results showed that after glycyrrhetic acid combined with puerarin and berberine, the permeability coefficient did

收稿日期: 2017-07-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473362)

作者简介: 董月柳, 硕士研究生。E-mail: 1299304460@qq.com

*通信作者 董 玲, 研究员, 硕士生导师, 从事生物药剂学及新剂型给药系统研究。Tel: (010)64286794 E-mail: dongling@bucm.edu.cn

not change, while the permeability coefficient changed, but not obviously, glycyrrhethinic acid combined with baicalin and berberine had lower permeability, P_{eff} values were from $(4.05 \pm 0.78) \times 10^{-5}$ cm/s down to $(1.35 \pm 0.69) \times 10^{-5}$ cm/s, and the effects of baicalin on glycyrrhethinic acid was evident. **Conclusion** Glycyrrhethinic acid can be absorbed in the ileum of rats, and has no obvious influence on P_{eff} and K_a values within a certain range of quality concentration. The absorption mechanism is determined to be passive diffusion, glycyrrhethinic acid is substrate of P-gp, and saturation phenomenon exists transporters; Baicalin has significant effects on glycyrrhethinic acid absorption, which may be related to the induction by P-gp expression, increasing the glycyrrhethinic acid from cell to the extracellular discharge, reducing the penetration of glycyrrhethinic acid, and influencing the absorption.

Key words: glycyrrhethinic acid; multicomponent environment; in situ single-pass intestinal perfusion; P-gp; intestinal permeability

甘草药理作用广泛,具有掩盖药物的不良气味、调和药性、解毒等作用,且与多种药物合用,素有“十方九草”的说法^[1]。甘草酸是甘草中高含量药效成分,甘草酸主要以铵盐的形式存在,极性较大,所以胃肠道很难吸收,临床上生物利用度低。正大天晴药业股份有限公司通过碱化甘草酸,将其异构成单一反式旋光异构体——异甘草酸,研发出国家 I 类专利新药——异甘草酸镁 (magnesium isoglycyrrhizinate, 天晴甘美)。但是随着甘草制剂及甘草酸的广泛使用,临床上时常发生甘草酸毒副反应,其中常见的是低血钾、高血压、水肿等假性醛固酮增多症^[2]。在甘草酸的大量研究中发现,甘草酸被肠道中 β -葡萄糖醛酸酶水解,入血成分主要是其水解产物甘草次酸,最后以甘草次酸形式发挥药理作用,所以本课题选择甘草次酸为研究对象。

在药物合用时,会发生相互作用,有些是增效作用,有些则会降低药物疗效,甚至会发生毒副反应,其中基于 P-糖蛋白 (P-gp) 的药物相互作用是目前研究较多的方向之一。本实验采用大鼠在体单向肠灌流模型考察多成分环境下甘草次酸在大鼠肠道中的吸收情况,考察甘草次酸不同质量浓度、P-糖蛋白 (P-gp) 抑制剂维拉帕米,以及不同成分配伍对甘草次酸肠吸收的影响,进一步探究 P-gp 在甘草次酸肠吸收中发挥的作用。

研究多成分对甘草次酸肠吸收的影响,多成分环境的研究载体显得尤为重要,本课题组在提出中药生物药剂学分类系统 (CMMBCS) 时,以葛根芩连方作为研究载体。葛根芩连方出自著名的中医典籍《伤寒论》,是中药经典名方;目前有片剂、胶囊和微丸在临床中使用;方中化学成分研究比较深入,生物活性成分明确 (葛根素、黄芩苷、小檗碱和甘草酸均为国家批准上市药物),生物活性成分作用机制较清楚,并且 4 种指标成分的量均较高;葛根芩连方中作为药效物质基础的化学成分包含药物在机

体内发挥治疗作用的所有可能情况 (与 CMMBCS 构建相关性较强),因此本课题选择葛根芩连方为多成分环境的研究载体。研究中药渗透性受多成分环境影响的重要意义在于可以从吸收的角度阐释中药处方组方的依据,同时也为中药与中药、中药与化学药合用提供理论和实验依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT 高效液相色谱仪 (SPD-20A 型紫外检测器, SIL-20A 自动进样器, 日本岛津公司); BT-25S 电子分析天平 (北京赛多利斯仪器有限公司); DZ-KW-4 电热恒温水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司); STARTER2100 实验室 pH 计 (奥豪斯仪器上海有限公司); KH7200DB 型数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与药品

甘草次酸对照品 (批号 20121112, 质量分数 > 99%, 上海源叶生物科技有限公司); 甘草次酸原料药 (批号 FY20150510, 质量分数为 98%, 南通飞宇生物科技有限公司); 葛根素原料药 (批号 120504, 质量分数为 99%)、小檗碱原料药 (批号 130808, 质量分数为 98%) 购自陕西中鑫生物技术有限公司; 黄芩苷原料药 (批号 ZLA-018, 质量分数为 98%, 南京泽朗医药科技有限公司); 乙腈 (色谱纯), 其他试剂均为分析纯。娃哈哈纯净水购于杭州娃哈哈集团有限公司。

1.3 动物

SD 大鼠, 雄性, 9 周龄, 体质量 200~220 g, 斯贝福 (北京) 实验动物技术有限公司提供, 动物许可证号 SCXK (京) 2011-0004。

2 方法与结果

2.1 Krebs-Ringer's 营养液 (K-R 液) 的配制

称取 NaCl 7.8 g、KCl 0.35 g、CaCl₂ 0.37 g、NaHCO₃ 1.37 g、NaH₂PO₄ 0.32 g、MgCl₂ 0.02 g、葡

葡萄糖 1.4 g, 加去离子水定容至 1 000 mL, 即得。

2.2 对照品溶液的配制

精密称定甘草次酸对照品适量, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解后, 定容至刻度, 摇匀后, 得甘草次酸质量浓度为 234 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。过 0.45 μm 的微孔滤膜, 备用。

2.3 供试品溶液制备

精密称取甘草次酸原料药 5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加一定体积的 K-R 液, 置超声仪中超声 10 min 至完全溶解, 加 K-R 液定容, 配制成甘草次酸质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的母液, 取上述母液 10 mL 置 100 mL 量瓶中, 加 K-R 液定容, 得甘草次酸质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的供试品溶液。

2.4 空白肠灌流液的制备

取 K-R 液适量, 按“2.6”项下方法进行灌流, 收集流出液, 即得。

2.5 分析方法建立

2.5.1 色谱条件 GEMINI C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL , 流动相为 0.1% 磷酸-乙腈 (2 : 98), 等度洗脱。

2.5.2 专属性试验 分别取空白灌流液、对照品溶液、供试品溶液进行 UPLC 检测, 结果见图 1。空白灌流液对样品定量测定无干扰, 说明该方法的专属性良好。

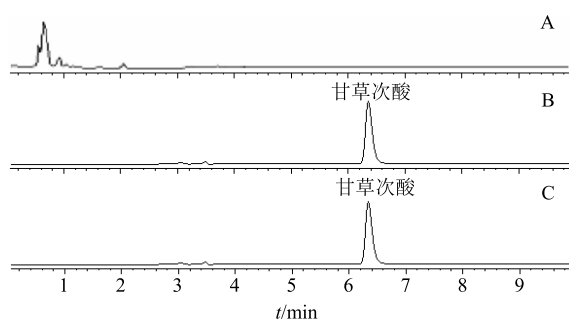


图 1 空白灌流液 (A)、对照品溶液 (B)、供试品溶液 (C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of blank intestinal perfusion fluid (A), glycyrrhetic acid reference solution (B), and sample (C)

2.5.3 线性关系考察 精密移取“2.2”项下对照品储备液 5 mL, 用 K-R 液定容至 10 mL, 再依次取半置于 10 mL 量瓶, 得到质量浓度为 117、58.5、29.25、14.625、7.312 5 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样检测, 记录峰面积, 以甘草次酸质量浓度 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标进

行线性回归, 得到标准曲线 $Y=41\,160X+19\,284$, $R^2=0.999\,5$, 甘草次酸质量浓度在 7.312 5~117 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.5.4 回收率实验 取空白肠灌流液, 分别加入质量浓度为 0.46、5.46、29.3 $\mu\text{g/mL}$ 甘草次酸对照品。按“2.5.1”项下色谱条件进样检测, 测定峰面积, 计算回收率及 RSD, 回收率为 99.6%~101.5%, RSD 为 0.32%~0.43%, 结果表明该方法的回收率良好。

2.5.5 精密度试验 分别取低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件依次进样 3 次, 测定甘草次酸峰面积的 RSD 分别为 0.98%、0.32%、0.59%, 表明仪器的精密度良好。

2.5.6 重复性试验 用 K-R 液配制 6 份相同质量浓度的甘草次酸供试品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件进样, 测得甘草次酸峰面积的 RSD 为 0.55%, 表明重复性良好。

2.5.7 稳定性试验

(1) 甘草次酸在 K-R 液中的稳定性考察: 用 K-R 液配制甘草次酸, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中温孵 3 h, 分别取 0、1、3 h 的样品, 过 0.45 μm 的微孔滤膜, 取续滤液, 按“2.5.1”项下色谱条件进样检测, 测得甘草次酸的峰面积 RSD 为 0.59%, 表明甘草次酸在 K-R 液中稳定性良好。

(2) 甘草次酸在空白肠灌流液中的稳定性考察: 按“2.6”项下方法, 得到 pH 值为 7.4 的空白肠灌流液, 配制质量浓度为 117 $\mu\text{g/mL}$ 的甘草次酸供试品溶液, 温孵 0、1、3 h。按“2.5.1”项下色谱条件进样, 检测空白肠灌流液中甘草次酸的峰面积, 计算 RSD 为 0.95%, 表明甘草次酸在肠灌流液中稳定性良好。

2.6 大鼠在体肠吸收实验

大鼠禁食不禁水 18 h, 水合氯醛麻醉后固定于手术台, 沿腹中线剪开腹部 3~4 cm, 找到实验用肠段 (十二指肠段自幽门 1 cm 处开始; 空肠段自幽门 15 cm 处开始; 回肠段自盲肠上行 20 cm 处开始; 小肠自幽门 1 cm 处开始至盲肠前端结束; 结肠段从盲肠后端开始), 取 10 cm, 在所取肠段 2 端剪一小口, 插入塑料管, 用丝线固定。生理盐水冲洗肠内容物, 在肠端连接注射泵以体积流量 0.5 mL/min 灌流药液, 约 30 min 吸收稳定后, 开始计时, 用已知质量的小瓶在出口处每隔 15 min 收集 1 次, 作为 1 个取样点, 同时用下一个已知质量的小瓶替换, 共收集 8 次。计算收集前后小瓶质量差, 测定收集液中甘草次酸的质量浓度。实验结束后处死大鼠, 用

生理盐水冲洗,并剪下被灌流的肠段,测量其长度和内径,计算肠吸收各指标^[3]。

$$P_{\text{eff}} = -Q_{\text{in}} \cdot \ln[C_{\text{out}(\text{cor})}/C_{\text{in}}]/(2\pi rL)$$

$$K_a = (1 - C_{\text{out}(\text{cor})}/C_{\text{in}}) \cdot Q_{\text{in}}/V$$

$$F_a = [1 - C_{\text{out}(\text{cor})}]/C_{\text{in}}$$

$$C_{\text{out}(\text{cor})} = C_{\text{out}} \cdot Q_{\text{out}}/Q_{\text{in}}$$

$$Q_{\text{out}} = M_{\text{out}}/(D_{\text{out}} \cdot t)$$

P_{eff} 为有效渗透系数, K_a 为吸收速率常数, F_a 为吸收分数, Q_{in} 为灌流液体积流量 (mL/min), L 为灌流肠段长度 (cm), r 为灌流肠段半径 (cm), C_{in} 为灌流液初始质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$), $C_{\text{out}(\text{cor})}$ 为经重量法校正后的灌流收集液质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$), V 为灌流肠道体积 (mL), Q_{out} 为通过灌流液密度测定的流出体积流量 (mL/min), C_{out} 为灌流收集液质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$), M_{out} 为灌流收集液质量 (g), D_{out} 为灌流收集液密度 (g/mL), t 为取样周期 (min)

2.7 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用统计分析软件 SPSS 16.0 处理数据,采用 t 检验分析。

2.8 影响甘草次酸肠吸收的因素考察

2.8.1 质量浓度及 P-gp 抑制剂对甘草次酸肠吸收的影响 选取大鼠 P-gp 量最高的回肠段^[4]进行单一

成分灌流实验,根据甘草次酸在 pH 7.4 缓冲溶液中的平衡溶解度^[5],选择甘草次酸质量浓度为 10、20 $\mu\text{g/mL}$ 。用 K-R 液精密配制 pH 值为 7.4,质量浓度分别为 10、20 $\mu\text{g/mL}$ 的甘草次酸供试品溶液,按“2.6”项下方法操作,体积流量 0.2 mL/min,测定收集液中甘草次酸质量浓度,计算肠吸收的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值。结果见表 1。结果表明,10、20 $\mu\text{g/mL}$ 2 个质量浓度下,甘草次酸肠吸收的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值无显著差异,表明甘草次酸在回肠段的吸收不受自身质量浓度的影响,主要以被动扩散机制吸收。

加入 P-gp 抑制剂维拉帕米,研究甘草次酸是否为 P-gp 的底物。配制含 100 $\mu\text{mol/L}$ 的维拉帕米的甘草次酸 (10 $\mu\text{g/mL}$) 灌流液,按“2.6”项下方法操作,测定甘草次酸肠吸收的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值。结果见表 1。加入维拉帕米后,甘草次酸的渗透有所增加 ($P < 0.05$),说明 P-gp 抑制剂对甘草次酸肠吸收有影响,推测甘草次酸为 P-gp 的底物。

2.8.2 2 种成分配伍对甘草次酸肠吸收的影响 由于甘草次酸的质量浓度对肠吸收的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值无影响,从经济角度考虑,选择甘草次酸的质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$,分别与葛根素、小檗碱、黄芩苷配

表 1 甘草次酸质量浓度对其 P_{eff} 、 K_a 、 F_a 值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 1 Effects of different drug concentration on P_{eff} , K_a , and F_a values of glycyrrhetic acid ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	浓度	$P_{\text{eff}}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-5} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
甘草次酸	10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	4.05 $\pm$ 0.78	62.90 $\pm$ 9.29	11.60 $\pm$ 1.59
	20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.72 $\pm$ 0.74	51.30 $\pm$ 9.43	13.40 $\pm$ 2.44
甘草次酸+维拉帕米	10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ + 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	5.82 $\pm$ 0.70*	69.80 $\pm$ 1.34*	18.11 $\pm$ 1.41*

与甘草次酸 (10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs glycyrrhetic acid (10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) group

伍,检测甘草次酸肠吸收的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值。参照化学药的最大给药质量浓度^[6],当半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时为强抑制,当 IC_{50} 为 200 $\mu\text{g/mL}$ 时为弱抑制,所以选择 100 $\mu\text{g/mL}$ 作为给药剂量。葛根素、小檗碱、黄芩苷分别用 K-R 液配制成质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的肠灌流液。实验结果见表 2,与甘草次酸组相比,甘草次酸+小檗碱组各吸收参数无统计学差异;甘草次酸+葛根素组各吸收参数差异显著 ($P < 0.05$);甘草次酸+黄芩苷组各吸收参数差异显著 ($P < 0.001$)。结果表明葛根素与黄芩苷对甘草次酸的肠吸收有明显的促进作用。

加大葛根素的剂量 (200 $\mu\text{g/mL}$),研究其对甘草次酸肠吸收的影响,测得 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值分别为 $(3.39 \pm 0.08) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$ 、 $(35.70 \pm 0.08) \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 、

$(9.29 \pm 0.10) \%$ 。从实验结果可知,与葛根素 100 $\mu\text{g/mL}$ 相比,葛根素 200 $\mu\text{g/mL}$ 与甘草次酸配伍后各吸收参数无显著变化,即甘草次酸的肠吸收不随葛根素质量浓度的变化而改变。

2.8.3 3 种成分配伍对甘草次酸肠吸收的影响 2 种成分配伍的实验结果表明成分配伍对甘草次酸的吸收存在影响,因此进一步考察 3 种成分配伍对甘草次酸肠吸收的影响,给药质量浓度和溶液配制同“2.8.2”项,结果见表 3。3 种成分配伍对甘草次酸的吸收有影响,与甘草次酸组相比, P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值均有所降低,其中小檗碱+黄芩苷+甘草次酸组对甘草次酸肠渗透参数的影响最显著 ($P < 0.001$)。

3 讨论

本实验考察多成分环境下甘草次酸在大鼠肠道

表 2 2 种成分伍对甘草次酸肠渗透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Effect of two components compatibility on intestinal permeability of glycyrrhetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$P_{\text{eff}}/(\times 10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-5} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
甘草次酸	10	4.05 ± 0.78	62.90 ± 9.29	13.40 ± 2.43
甘草次酸+葛根素	10+100	$3.10 \pm 0.36^*$	$28.00 \pm 3.05^*$	$11.45 \pm 1.47^*$
甘草次酸+小檗碱	10+100	4.09 ± 0.81	39.60 ± 8.53	11.40 ± 2.56
甘草次酸+黄芩苷	10+100	$2.18 \pm 0.63^{***}$	$27.20 \pm 7.29^{***}$	$5.12 \pm 1.50^{***}$

与甘草次酸组比较: $^*P < 0.05$ $^{***}P < 0.001$ $^*P < 0.05$ $^{***}P < 0.001$ vs glycyrrhetic acid group表 3 3 种成分伍对甘草次酸肠渗透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Effect of three components compatibility on intestinal permeability of glycyrrhetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$P_{\text{eff}}/(\times 10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-5} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
甘草次酸	10	4.05 ± 0.78	62.98 ± 9.29	13.40 ± 2.43
甘草次酸+葛根素+小檗碱	10+100+100	3.82 ± 0.86	51.63 ± 7.91	7.22 ± 1.75
甘草次酸+葛根素+黄芩苷	10+100+100	3.85 ± 1.01	41.84 ± 10.50	9.10 ± 2.27
甘草次酸+小檗碱+黄芩苷	10+100+100	$1.35 \pm 0.69^{***}$	$13.72 \pm 3.80^{***}$	$4.51 \pm 1.07^{***}$

与甘草次酸组比较: $^{***}P < 0.001$ $^{***}P < 0.001$ vs glycyrrhetic acid group

中的吸收情况, 考察甘草次酸不同质量浓度、P-gp 抑制剂维拉帕米, 以及葛根连方不同成分伍对甘草次酸肠吸收的影响, 进一步探究 P-gp 在甘草次酸肠吸收中发挥的作用。

不同质量浓度下, 甘草次酸肠渗透的 P_{eff} 、 K_a 和 F_a 值无显著差异, 表明甘草次酸在回肠段的吸收不受自身质量浓度的影响, 主要以被动扩散机制吸收。加入维拉帕米后, 甘草次酸的有效渗透系数 P_{eff} 有所增加 ($P < 0.05$), 说明 P-gp 抑制剂对甘草次酸渗透有影响, 推测甘草次酸为 P-gp 的底物。

2 种成分伍实验结果表明, 甘草次酸的肠渗透性受葛根素与黄芩苷的影响较显著, 且呈现抑制作用, 受小檗碱的影响不显著。3 种成分伍时, 小檗碱+黄芩苷+甘草次酸组对甘草次酸肠渗透参数的影响最显著 ($P < 0.001$)。黄芩苷、甘草次酸、小檗碱 3 种成分伍后与黄芩苷+甘草次酸、小檗碱+甘草次酸相比较, 甘草次酸的渗透降低, 推测小檗碱和黄芩苷对于促进甘草次酸的肠吸收具有协同作用。

从上述实验结果可知, 甘草次酸的渗透受黄芩苷影响最明显。有文献报道^[7]黄芩苷对 P-gp 具有诱导作用, 推测黄芩苷是通过诱导 P-gp 的表达, 增加了甘草次酸从细胞内到细胞外的外排, 降低了甘草次酸的渗透。

甘草次酸的 P_{eff} 为 $(4.05 \pm 0.78) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$, 为高渗透性药物。前期研究发现, 甘草次酸在水中的饱和溶解度约 $20 \mu\text{g/mL}$, 其属于微溶性成分。

结合上述实验结果并依据生物药剂学分类系统分类, 可知甘草次酸属于 BCSIII 类, 即溶解性不好、渗透性好的化合物。因此可通过制剂手段和成分伍提高甘草次酸溶解度和渗透性, 以达到改善吸收的目的。

参考文献

- [1] 高雪岩, 王文全, 魏胜利, 等. 甘草及其活性成分的药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2695-2700.
- [2] 张明发, 张 军. 甘草酸药理学研究进展 [J]. 临床药物治疗杂志, 2009, 7(2): 44-49.
- [3] Li H, Dong L, Liu Y, *et al.* Comparison of two approaches of intestine absorption by puerarin [J]. *Pharm Toxicol Methods*, 2014, doi: 10.1016/j.vascn.2014. 03.170.
- [4] Takara K, Ohnishi N, Horibe S, *et al.* Expression profiles of drug-metabolizing enzyme CYP3A and drug efflux transporter multidrug resistance 1 subfamily mRNAs in rat small intestine [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(10): 1235-1239.
- [5] 郭波红, 程 怡, 林绿萍, 等. 甘草次酸平衡溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(3): 221-223.
- [6] Usia T, Iwata H, Hiratsuka A, *et al.* CYP3A4 and CYP2D6 inhibitory activities of Indonesian medicinal plants [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13(1): 67-73.
- [7] 杨艳秋, 刘贵军, 熊丽辉. 黄芩的主要成分对 Caco-2 细胞 P-gp 表达的影响 [J]. 中药材, 2016, 39(9): 2122-2125.