

肠道菌群失调对黄芩苷和黄芩素在大鼠体内药动学的影响

张茜¹, 张硕^{2#}, 孟小夏^{1,3}, 张敏¹, 高秀丽^{1,3*}

1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550004

2. 贵州医科大学实验动物中心, 贵州 贵阳 550004

3. 贵州医科大学微生物与生化药学工程中心, 贵州 贵阳 550004

摘要: **目的** 研究肠道菌群失调对黄芩苷和黄芩素在大鼠体内药动学的影响。**方法** 将SD大鼠分为4组: 黄芩苷组、抗生素+黄芩苷组、黄芩素组、抗生素+黄芩素组。利用盐酸林可霉素造模5 d, 诱导大鼠肠道菌群失调。采用药动学相关技术和方法, 正常大鼠和肠道菌群失调大鼠分别ig给予等摩尔剂量(370 $\mu\text{mol/kg}$)的黄芩苷和黄芩素, 于20 h内不同时间点采集血浆样品, 采用LC-MS/MS测定血浆中黄芩苷的浓度, 绘制药时曲线, 用DAS.2.2软件将所得数据进行分析处理, 比较黄芩苷和黄芩素在正常大鼠和菌群失调大鼠体内的药动学行为变化。**结果** 黄芩素ig给药后, 原型药完全被代谢, 血浆中主要检测到代谢产物黄芩苷; 与黄芩苷组达峰浓度 [C_{max} , (16.35 $\pm$ 9.48) mg/L] 相比较, 抗生素+黄芩苷组的 C_{max} [(7.80 $\pm$ 5.52) mg/L] 显著降低, 与黄芩苷组 AUC_{0-4} [(75.16 $\pm$ 48.40) mg·h/L] 相比较, 抗生素+黄芩苷组 AUC_{0-4} [(32.60 $\pm$ 18.88) mg·h/L] 显著降低; 与黄芩素组 C_{max} [(60.39 $\pm$ 56.32) mg/L] 相比较, 抗生素+黄芩素组的 C_{max} [(10.28 $\pm$ 5.57) mg/L] 显著降低, 与黄芩素组 AUC_{0-4} [(212.51 $\pm$ 101.25) mg·h/L] 相比较, 抗生素+黄芩素组的 AUC_{0-4} [(71.67 $\pm$ 54.49) mg·h/L] 显著降低。**结论** 肠道菌群失调抑制黄芩苷和黄芩素的吸收。

关键词: 黄芩苷; 黄芩素; 盐酸林可霉素; 肠道菌群失调; 药动学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)18-3783-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.18.018

Effects of intestinal flora imbalance on pharmacokinetic parameters of baicalin and baicalein in rats

ZHANG Qian¹, ZHANG Shuo², MENG Xiao-xia^{1,3}, ZHANG Min¹, GAO Xiu-li^{1,3}

1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

2. Laboratory Animal Center, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

3. Center for Microbial and Biochemical Engineering, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

Abstract: **Objective** To study the effects of intestinal flora imbalance after ig administration on pharmacokinetic parameters of baicalin or baicalein in rats. **Methods** The SD rats were divided into four groups including baicalin group, antibiotic + baicalin group, baicalein group, and antibiotic + baicalein group. Traditional antibiotic medicine lincomycin were used to induce rats gut micro dysbiosis for 5 d. The pharmacokinetics of related technologies and methods were used, and the rats were administered with Moore dose (370 $\mu\text{mol/kg}$) of baicalin and baicalein. The plasma samples were collected at different time points within 20 h, and the concentration of baicalin was determined with LC-MS/MS, and the curve was drawn. The data were analyzed by DAS.2.2 software, comparison of baicalin and baicalein in animal behavior changes of rats in normal rats and antibiotics. **Results** The results showed that the baicalein was metabolized entirely and the metabolite baicalin was detected mainly in rat plasma after oral administration of baicalein. These results showed that the C_{max} [(7.80 $\pm$ 5.52) mg/L] of baicalin in rats in antibiotic + baicalin group was decreased compared with that with baicalin alone [C_{max} (16.35 $\pm$ 9.48) mg/L]. Meanwhile, the AUC_{0-4} of baicalin in antibiotic + baicalin group was 32.60 $\pm$ 18.88 mg·h/L which was significantly lower than that in rats with baicalin alone [(75.16 $\pm$ 48.40) mg·h/L]. These results showed that the C_{max} [(10.28 $\pm$ 5.57) mg/L] of baicalin in rats of antibiotic + baicalein group was decreased compared with that with baicalein alone [C_{max} (60.39 $\pm$ 56.32) mg/L]. Meanwhile, the AUC_{0-4} of baicalin in antibiotic + baicalein group was (71.67 $\pm$ 54.49) mg·h/L which was significantly lower than that in rats with baicalein alone [(212.51 $\pm$ 101.25) mg·h/L]. **Conclusion** Baicalin and baicalein showed bad pharmacokinetic behavior in rats when the rat intestinal flora is imbalance.

Key words: baicalin; baicalein; lincomycin hydrochloride; intestinal flora imbalance; pharmacokinetic

收稿日期: 2017-04-08

基金项目: 贵州省普通高等学校工程研究中心课题(黔教合KY字【2015】)

作者简介: 张茜, 女, 在读研究生, 主要研究方向为体内药物分析、药物代谢和药动学研究。E-mail: 675219472@qq.com

*通信作者 高秀丽, 女, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为药物质量分析研究、中药药效物质基础及质量研究和体内药物分析, 药物代谢和药动学研究。E-mail: 1550434689@qq.com

#并列第一作者 张硕, 女, 助教, 主要研究方向为实验动物学、药理学研究。E-mail: 1061453852@qq.com

黄芩苷与其苷元黄芩素是黄芩的主要有效成分,具有抗菌、抗炎、抗 HIV 病毒、扩张血管、清除自由基、抗氧化、抗肿瘤、降压和利尿等多种药理作用^[1-6],是含黄芩制剂的主要质量控制指标。有文献报道,黄芩苷是复原型前体药物,口服后并不完全直接被吸收,大部分在肠内经肠道菌群作用转化为苷元黄芩素而被吸收入血,再在体内迅速地转化为黄芩苷。因此,在黄芩苷及其苷元黄芩素的体内吸收、代谢过程中,肠道菌群有着重要的作用,甚至影响药效的发挥^[7-13]。

抗生素类药物能影响细菌的增殖,引起肠道菌群的改变,可能会影响黄芩苷及其苷元黄芩素在肠道中的吸收代谢乃至药效^[12]。然而,与此有关的文献报道很少,因此,本实验采用抗生素诱导大鼠肠道菌群失调,研究在肠道菌群失调条件下黄芩苷和黄芩素在大鼠体内的药动学特征。长期使用抗生素后,对抗生素敏感的正常肠道菌群是否失调可以通过平板活菌计数法判定。该方法计数的线性范围大,能较好地反映菌落的疏密程度,重复性、平行性亦好^[14]。因此,本实验选择用抗生素盐酸林可霉素制备肠道菌群失调模型(平板活菌计数法判定),研究等摩尔剂量(370 $\mu\text{mol/kg}$)的黄芩苷和黄芩素在模型大鼠与正常大鼠体内的药动学行为差异^[15-16]。

1 材料

1.1 仪器

TSQ QUANTUM 型三重四级杆串联质谱仪(美国 Thermo Finnigan 公司); Thermo MLtiMate 3000 型超高效液相色谱仪(美国 Thermo Finnigan 公司); LD QUAN 数据处理系统(美国 Thermo Finnigan 公司); Allegra 型 Beckman 超速冷冻离心机(美国 Beckman 公司); VXR B S25 型 IKA VIBRAX basic 自动涡旋振荡仪(德国 IKA 公司); SG8200H 型超声波清洗器(上海冠特超声仪器有限公司); 2XZ-1 型旋片式真空泵(浙江黄岩黎明实业有限公司); AB104-N Mettler 型电子天平(梅特勒-托利仪器有限公司); 立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); BBS-V800 超净工作台(苏州净化设备总厂); DNP-9052 电热恒温培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸林可霉素注射液(规格 2 mL, 0.6 g),批号 1503252,购于江苏吴中医药集团有限公司苏州制药厂;对照品黄芩苷(HPLC 测定质量分数>

98%,批号 110715-201312)、黄芩素(HPLC 测定质量分数>98%,批号 110715-201214)、染料木素(HPLC 测定质量分数>98%,批号 110714-201216)均购于中国食品药品检定研究院;麦康凯培养基、肠球菌琼脂培养基、双歧杆菌培养基、乳酸杆菌琼脂培养基、平板计数琼脂,均购自青岛高科园海博生物技术有限公司;娃哈哈纯净水。

1.3 动物

健康雄性 SD 大鼠,体质量(220 $\pm$ 20) g,重庆腾鑫比尔实验动物销售有限公司提供,许可证号 SCXK 渝 2007-0005。

2 方法与结果

2.1 肠道菌群失调模型的制备及评价

2.1.1 肠道菌群失调模型的制备 SD 大鼠随机分为抗生素组 and 对照组,每组 6 只。抗生素组大鼠 ig 盐酸林可霉素 4 mL,每天 1 次;对照组大鼠 ig 等体积的生理盐水,连续造模 5 d。观察大鼠形态、行为变化及体质量变化差异。第 6 天无菌取大鼠盲肠内容物 0.1 g,加生理盐水 0.9 mL,涡旋震荡使均质化,进行 10 倍系列稀释至 1×10^7 ,选择 3 个不同稀释度,自高至低在相应的培养基上接种 100 μL 稀释液标本,放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 电热恒温培养箱中进行培养。其中双歧杆菌培养基和乳酸杆菌琼脂培养基厌氧培养 48~72 h,其余培养基需氧培养 24~48 h。待菌落长出后,观察其形态特征,计数菌落数,并计算每克盲肠内容物中的细菌数量,单位为 CFU/g。

菌落数量 = $X \times \text{接种体积} \times \text{稀释倍数} / \text{标本质量}$

X 是同一稀释度的平均菌落数

2.1.2 大鼠形态、体质量变化结果 对照组大鼠行动活跃,被毛光滑平整,饮食正常;抗生素组大鼠精神萎靡,畏寒扎堆,畏光,有钻窝现象,被毛无光滑不平整,饮食量显著下降,大便稀湿等。抗生素组实验前后体质量变化与对照组比较,差异不显著($P>0.05$)。

2.1.3 肠道菌群检测结果 由肠道菌群检测结果(表 1)得知,与对照组比较,抗生素组大肠埃希菌、双歧杆菌、乳酸杆菌与总菌群均减少,差异显著($P<0.05$)。表明盐酸林可霉素能造成正常大鼠肠道菌群失调。

2.2 给药与样品采集

24 只 SD 大鼠随机分为抗生素+黄芩苷组、抗生素+黄芩素组和黄芩苷组、黄芩素组,每组 6 只。抗生素+黄芩苷组和抗生素+黄芩素组用“2.1.1”

表 1 两组大鼠肠道菌群检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Results of intestinal flora of rats in two groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	菌群数量/(CFU·g ⁻¹)				
	大肠埃希菌	肠球菌	双歧杆菌	乳酸杆菌	总菌
对照	8.13±0.86	7.89±0.80	8.20±0.41	8.27±0.29	8.12±0.77
抗生素	6.00±0.20*	7.27±2.45	7.39±2.25**	7.48±2.21**	7.12±1.80*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

项方法在造模后第 6 天分别 ig 给予等摩尔剂量 (370 $\mu\text{mol/kg}$) 的黄芩苷和黄芩素。黄芩苷组和黄芩素组 ig 等量生理盐水 5 d, 第 6 天分别 ig 给予等摩尔剂量 (370 $\mu\text{mol/kg}$) 的黄芩苷和黄芩素。分别于给药后 0.5、1、2、4、6、7、8、9、10、12、16、20 h 经尾静脉取血 0.5 mL 于肝素化离心管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 分离上层血浆, 保存于 -20 °C 的冰箱, 待测。

2.3 大鼠血浆样品中黄芩苷、黄芩素的定量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo DimHypersil GOLD 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相为乙腈 (A) -0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~8 min, 10%→80% A; 8 min, 80%→10% A; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 °C; 进样体积 10 μL 。

2.3.2 质谱条件 离子源为电喷雾离子源 (ESI); 检测方式为正离子检测方式; 碰撞气氦气 (Ar); 辅助气氮气 (N₂); 源电压 4 kV; 毛细管电压 3.5 kV; 毛细管温度 270 °C; 蒸发温度 300 °C。采用一级全扫描质谱 (Full scan MS) 和选择反应监测模式 (SRM) 同时测定; 用于定量分析的离子反应分别是 m/z 447→271 (黄芩苷), m/z 271→169 (染料木素, 内标), m/z 271→123 (黄芩素)。

2.3.3 对照品溶液和内标溶液的配制 精密称取黄芩苷、黄芩素对照品适量, 用色谱甲醇配成含黄

芩苷 1.055 mg/mL、黄芩素 1.279 mg/mL 的混合对照品储备液。精密称取染料木素适量, 用色谱甲醇配成 0.901 mg/mL 内标储备液。

2.3.4 血浆样品处理 精密吸取血浆样品 100 μL , 加入染料木素内标储备液 10 μL 、0.5 mol/L HCl 溶液 50 μL , 涡旋振荡混匀, 加入醋酸乙酯 1 mL, 振荡液-液萃取 10 min, 4 000 r/min 冷冻离心 10 min, 取上清液, 用氮吹仪吹干 (40 °C), 最后用 2 mL 流动相 (1:1) 涡旋复溶, 0.22 μm 微孔滤膜滤过后进样 10 μL 。

2.3.5 专属性考察 分别取大鼠空白血浆, 加入黄芩苷、黄芩素和内标染料木素对照品的空白血浆和实验组的含药血浆样品, 按“2.3.4”项方法处理后进样。结果见图 1。本实验条件下, 血浆中的内源性物质不干扰黄芩苷、黄芩素和内标物的测定, 表明方法专属性良好, 黄芩苷、黄芩素和内标物的保留时间分别为 4.71、5.66、6.01 min。

2.3.6 线性关系考察 分别取空白血浆 100 μL , 加入 10 μL 混合对照品系列溶液, 配成黄芩苷质量浓度为 4.220、2.110、1.055、0.528、0.264、0.132、0.066、0.013 $\mu\text{g/mL}$ 和黄芩素质量浓度为 5.120、2.560、1.280、0.640、0.320、0.160、0.080、0.016 $\mu\text{g/mL}$ 系列对照品溶液, 按“2.3.4”项方法处理并测定,

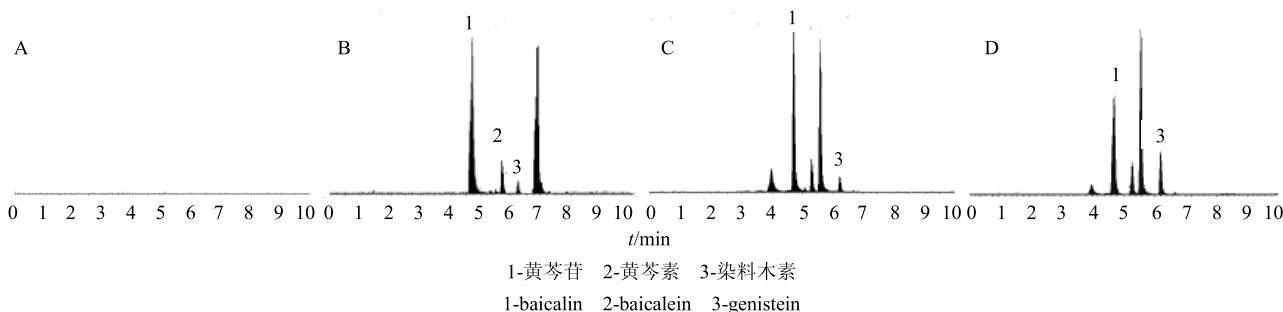


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加黄芩苷、黄芩素及染料木素对照品溶液 (B)、大鼠 ig 黄芩素后血浆样品 (C) 和大鼠 ig 黄芩苷后血浆样品 (D) 的图谱

Fig. 1 Chromatograms of blank plasma of rats (A), blank plasma of rats + internal standard + mixed references substances (B), plasma sample of rats after ig administration with baicalein (C), and plasma sample of rats after ig administration with baicalin (D)

记录黄芩苷、黄芩素与内标物的峰面积。以黄芩苷（黄芩素）质量浓度为横坐标（ X ），黄芩苷（黄芩素）与内标物的峰面积比值为纵坐标（ Y ），用加权（ $W=1/x^2$ ）最小二乘法进行线性回归，得回归方程，黄芩苷： $Y=0.066\ 9\ X-0.011\ 7$ ，（ $R^2=0.999\ 6$ ），黄芩素： $Y=0.032\ 2\ X+0.052\ 7$ （ $R^2=0.993\ 3$ ），黄芩苷在 $0.013\sim 4.22\ \mu\text{g/mL}$ 线性良好，黄芩素在 $0.016\sim 5.12\ \mu\text{g/mL}$ 线性良好；黄芩苷和黄芩素的定量下限分别为 0.013 、 $0.016\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.7 提取回收率 在空白血浆中加入已知量的黄芩苷、黄芩素对照品，制成黄芩苷高、中、低质量浓度（ $4\ 220$ 、 264 、 $13\ \text{ng/mL}$ ）和黄芩素高、中、低质量浓度（ $5\ 116$ 、 326 、 $16\ \text{ng/mL}$ ）的质控（QC）样品，每个质量浓度样品制备 6 份，按“2.3.4”项方法进行样品处理后，依法测定。另取空白血浆样品，按“2.3.4”项方法进行样品处理，离心后得上清液，分别加入与上述相应质量浓度的对照品溶液，离心后吹干，残留物用 $2\ \text{mL}$ 流动相复溶，处理后依法测定。以 2 种方法测得的黄芩苷、黄芩素

峰面积比值计算提取回收率，测得高、中、低质量浓度黄芩苷的提取回收率分别为 87.8% 、 93.5% 、 90.4% ，高、中、低质量浓度黄芩素的提取回收率分别为 89.1% 、 91.8% 、 94.9% ，均在 $85\%\sim 115\%$ ，符合实验要求。

2.3.8 精密度与准确度、稳定性考察 按“2.3.7”项方法制备 3 个不同质量浓度的 QC 样品，按“2.3.4”项方法处理后进样，考察日内与日间精密度；考察室温放置 $24\ \text{h}$ 、 $-80\ ^\circ\text{C}$ 反复冻融 3 次、 $-80\ ^\circ\text{C}$ 保存 $20\ \text{d}$ 、进样器放置 $24\ \text{h}$ 后的稳定性。测得高、中、低质量浓度黄芩苷和黄芩素的日内精密度 RSD 分别为 4.2% 、 6.1% 、 6.3% ， 5.7% 、 4.5% 、 7.8% ；高、中、低质量浓度黄芩苷和黄芩素的日间精密度 RSD 分别为 7.4% 、 8.2% 、 10.7% ， 6.2% 、 7.9% 、 11.4% ，均低于 15% ，符合要求；准确度以误差（RE）表示均低于 15% ；室温放置 $24\ \text{h}$ 、 $-80\ ^\circ\text{C}$ 反复冻融 3 次、 $-80\ ^\circ\text{C}$ 下保存 $20\ \text{d}$ 、进样器放置 $24\ \text{h}$ 后黄芩苷和黄芩素的准确度以 RE 表示均低于 15% ，RSD 低于 15% ，符合要求。稳定性结果见表 2。

表 2 稳定性结果

Table 2 Results of stability

条件	黄芩苷			黄芩素		
	$\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RE/%	RSD/%	$\rho/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	RE/%	RSD/%
室温放置 $12\ \text{h}$	$4\ 220$	7.3	4.6	$5\ 116$	5.9	6.2
	264	6.8	5.5	326	6.7	8.5
	13	9.4	9.4	16	8.6	10.3
$-80\ ^\circ\text{C}$ 反复冻融 3 次	$4\ 220$	6.7	5.0	$5\ 116$	4.4	7.8
	264	5.8	4.0	326	8.5	9.3
	13	9.2	10.2	16	9.7	14.1
$-80\ ^\circ\text{C}$ 冻存 $20\ \text{d}$	$4\ 220$	4.8	12.5	$5\ 116$	7.7	8.3
	264	7.3	9.6	326	6.4	10.4
	13	9.5	11.2	16	7.6	13.8
进样器放置 $24\ \text{h}$	$4\ 220$	6.2	2.4	$5\ 116$	4.8	4.9
	264	5.3	6.3	326	7.6	5.9
	13	4.6	8.2	16	5.9	7.3

2.3.9 基质效应考察 通过对比萃取后空白血浆与等浓度流动相中的黄芩苷（黄芩素）与内标的峰面积来评价基质效应。分别取空白血浆 $100\ \mu\text{L}$ ，按“2.3.7”项下方法操作，采用处理后加入待测样品及内标的方法，配制低、中、高 3 个质量浓度的黄芩苷（黄芩素）样品，此法获得的峰面积记为 A，每一质量浓度平行制备 6 个样品。低、中、高 3 个质量浓度的黄芩苷（黄芩素）对照品溶液直接进样后

获得的峰面积记为 B，每一质量浓度平行制备 3 个样品。A/B 的值即为基质效应。结果显示：黄芩苷低、中、高 3 个质量浓度的基质效应分别为 88.17% 、 91.24% 、 91.12% ；RSD 分别为 4.2% 、 4.8% 、 2.0% ；黄芩素低、中、高 3 个质量浓度的基质效应分别为 87.62% 、 90.76% 、 92.15% ；RSD 分别为 3.8% 、 4.2% 、 2.3% 。结果表明本研究所确立的样品处理检测方法基质效应较小，对检测目标物质具有特异性和针对

性, 血浆中的内源性物质不影响目标物质的检测。

2.4 统计学处理

采用药动学计算程序 DAS 3.2.2 对大鼠血浆中黄芩苷(黄芩素)的相关数据进行处理, 并用非房室模型进行药动学参数计算; 采用 SPSS 18.0 统计软件对所得参数进行统计学分析, 比较各组间的差异, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2.5 药动学结果及分析

各组大鼠血浆中的黄芩苷药时曲线见图 2, 黄芩苷的药动学参数见表 3。

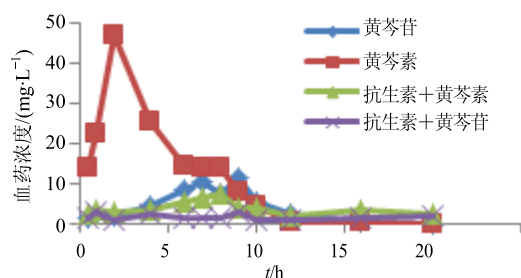


图 2 各组给药后黄芩苷平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 2 Plasma concentration-time curves of baicalin in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 3 各组给药后黄芩苷的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of baicalin in rats after ig administration ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	黄芩苷	抗生素+黄芩苷	黄芩素	抗生素+黄芩素
AUC_{0-t}	$mg \cdot h \cdot L^{-1}$	75.16 ± 48.40	$32.60 \pm 18.88^*$	$212.51 \pm 101.25^*$	$71.67 \pm 54.49^{\#}$
$t_{1/2}$	h	1.98 ± 0.75	$10.77 \pm 11.20^*$	2.27 ± 0.71	$10.45 \pm 3.40^{\#}$
t_{max}	h	7.83 ± 1.33	9.17 ± 8.89	3.00 ± 2.86	6.58 ± 5.68
C_{max}	$mg \cdot L^{-1}$	16.35 ± 9.48	$7.80 \pm 5.52^*$	$60.39 \pm 56.32^*$	$10.28 \pm 5.57^{\#}$
V_z/F	$L \cdot kg^{-1}$	$8\ 639.12 \pm 5\ 778.12$	$73\ 426.97 \pm 85\ 877.97^*$	$1\ 488.08 \pm 481.76^*$	$34\ 946.94 \pm 31\ 255.74^{\#}$
CL_z/F	$L \cdot h \cdot kg^{-1}$	$3\ 028.69 \pm 1\ 729.83$	$8\ 192.37 \pm 9\ 072.59^*$	$485.29 \pm 189.09^*$	$1\ 969.88 \pm 1\ 773.69^{\#}$

与黄芩苷组比较: $^*P<0.05$; 与黄芩素组比较: $^{\#}P<0.05$

$^*P<0.05$ vs baicalin group; $^{\#}P<0.05$ vs baicalein group

2.5.1 大鼠 ig 黄芩苷后的药动学特征 由图 2 结果可知, 菌群失调大鼠和正常大鼠 ig 黄芩苷后, 黄芩苷的药时曲线均出现多峰现象, 在给药后 1 h 血药浓度达到第一个峰, 在 7~10 h 黄芩苷血药浓度最高, 其原因可能是黄芩苷在体内各部分(如胃、肠等部位)的吸收速度与程度不同, 可能存在肝肠循环或其他循环。菌群失调大鼠 ig 黄芩苷后, 体内黄芩苷的药时曲线低于正常大鼠的黄芩苷的药时曲线, 达峰时间(t_{max})也有所延迟, 表明抗生素诱导肠道菌群失调后, 影响了黄芩苷的吸收。由表 3 可知, 抗生素+黄芩苷组血浆中黄芩苷的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 分别为 $(7.80 \pm 5.52) mg/L$ 、 $(32.60 \pm 18.88) h \cdot mg/L$ 显著低于黄芩苷组的 C_{max} [$(16.35 \pm 9.48) mg/L$] 和 AUC_{0-t} [$(75.16 \pm 48.40) h \cdot mg/L$] ($P<0.05$), V_z/F 、 CL_z/F 均显著高于黄芩苷组, t_{max} 、 $t_{1/2}$ 高于黄芩苷组 ($P<0.05$), 表明肠道菌群失调增加了黄芩苷在体内的分布, 加快了黄芩苷的消除速度, 减缓了黄芩苷的吸收速度, 最终抑制了黄芩苷的吸收程度; 结果提示, 肠道菌群失调抑制黄芩苷在大鼠体内的吸收。

2.5.2 大鼠 ig 黄芩素后的药动学特征 在本实验

的给药剂量下, ig 给药黄芩素后, 黄芩素原型药完全被代谢, 在大鼠血浆中主要检测到代谢产物黄芩苷, 因此对血浆样品中的黄芩苷进行定量, 这与文献报道一致^[17]。有图 2 和表 3 可知, 正常大鼠 ig 黄芩素后, 血浆中黄芩苷在 2 h 达血药浓度高峰, 提示黄芩素迅速被吸收; 等摩尔剂量下, 正常大鼠体内, 黄芩素组的黄芩苷的 C_{max} 和 AUC_{0-t} 均显著高于黄芩苷组, V_z/F 、 CL_z/F 均显著低于黄芩苷组, t_{max} 显著短于黄芩苷组, 这可能是 ig 黄芩素后, 黄芩素迅速被吸收进入血液循环, 黄芩素在体内分布减少, 清除率降低, 造成黄芩素组最终 C_{max} 和 AUC_{0-t} 显著增加 ($P<0.05$)。

给药黄芩素后, 相比于正常大鼠, 抗生素处理大鼠体内黄芩苷的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 显著降低 ($P<0.05$), V_z/F 、 CL_z/F 均显著升高 ($P<0.05$), t_{max} 、 $t_{1/2}$ 显著升高 ($P<0.05$), 提示肠道菌群失调, 黄芩素的吸收程度降低了, 在体内的分布增加了, 清除率提高, 吸收速度减缓了; 肠道菌群失调抑制黄芩素在大鼠体内的吸收过程。

3 讨论

几乎所有的抗生素均能引起肠道菌群失调。林

可霉素、头孢类、其他青霉素类、氯霉素、大环内酯类、四环素类等抗生素均能诱导使肠道菌群紊乱^[18-19]。其中,头孢类和盐酸林可霉素能在较短时间内诱导肠道菌群失调,停药后失调状态维持较长时间,其中盐酸林可霉素所致肠道菌群失调维持时间最长^[18-19]。因此,本实验采用盐酸林可霉素诱导大鼠肠道菌群失调,无菌采集盲肠内容物,通过麦康凯培养基、肠球菌琼脂培养基、双歧杆菌培养基、乳酸杆菌琼脂培养基,平板计数琼脂选择培养,分别对大肠埃希菌、肠球菌、双歧杆菌、乳酸杆菌与总菌群数量变化进行了测定。结果表明,与对照组比较,抗生素组大鼠的大肠埃希菌、双歧杆菌、乳酸杆菌与总菌群均减少,其存在显著性差异($P < 0.05$),提示抗生素组大鼠的肠道菌群紊乱。

造模期间可观察到抗生素组大鼠相对于正常大鼠毛色粗糙,粪便稀湿,出现较为严重的腹泻症状,结合肠道菌群检测结果,提示抗生素诱导肠道菌群失调成功。大鼠 ig 黄芩苷后,抗生素+黄芩苷组黄芩苷的吸收显著低于黄芩苷组,推测抗生素诱导肠道菌群失调后,抑制了黄芩苷在大鼠体内的吸收。

大鼠 ig 黄芩素后,主要检测到代谢产物黄芩苷,原形药黄芩素低于检测限,因此对血浆样品中的黄芩苷进行定量^[17]。口服黄芩素后,黄芩苷在 2 h 达血药浓度高峰,提示黄芩素迅速被吸收;等摩尔剂量下,给药黄芩素组的黄芩苷的 $C_{\max}$ 和 AUC_{0-4} 均显著高于黄芩苷组,这可能是由于口服黄芩素会被直接吸收,而口服黄芩苷,则需要微生物水解转化为黄芩素后再被吸收,因此前者吸收黄芩素的药量明显高于后者,最终导致达峰浓度的增加^[20]。本实验分别给予抗生素大鼠和正常大鼠等摩尔浓度的黄芩素,结果,抗生素组黄芩苷的吸收显著低于正常组,推测抗生素诱导肠道菌群失调后,抑制了黄芩素在大鼠体内的吸收。

本实验研究并比较黄芩苷和黄芩素在抗生素诱导菌群失调大鼠和正常大鼠体内的药动学行为的差异,发现抗生素盐酸林可霉素可导致大鼠肠道菌群失调,进而抑制黄芩苷和黄芩素的吸收。本研究证实了抗生素类药物由于其导致肠道菌群失调,减少了黄芩苷和黄芩素的吸收,降低了其药理作用,因此临床上将这类抗生素药物与含黄芩苷、黄芩素药物合用的科学性有待商榷。

参考文献

[1] 钱 锋,蒙艳丽,王英岩,等. 黄芩苷的抗菌作用研究

进展 [J]. 黑龙江中医药, 2015, 37(5): 73.

- [2] Gong W Y, Zhao Z X, Liu B J, *et al*, Exploring the chemopreventive properties and perspectives of baicalin and its aglycone baicalein in solid tumors [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 126: 844-852.
- [3] 许 聪,张惠惠,孙 燕. 黄芩苷抗肿瘤作用及其研究进展 [J]. 沈阳医学院学报, 2016(3): 211-213.
- [4] 许激扬,张映桥,卞筱泓,等. 降压中药有效组分配伍对离体大鼠胸主动脉环的舒张作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 147-151.
- [5] 马玲玲,孙 燕. 中药黄芩药理作用的研究进展 [J]. 沈阳医学院学报, 2016, 18(2): 115-117.
- [6] 丁 婵,褚秀玲,苏建青,等. 黄芩苷抗病毒作用研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2016, 35(2): 27-29.
- [7] 梁志强,郑 彤,高兴旺. 黄芩素在溃疡性结肠炎模型大鼠肝、肠微粒体中酶促反应动力学研究 [J]. 中南药学, 2016, 14(12): 1302-1307.
- [8] 柴士伟,潘桂湘. 药物代谢研究方法简述 [J]. 天津中医药, 2006(1): 83-85.
- [9] 李寒冰,吴宿慧,张颜语. 中药与肠道菌相互作用研究进展 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 147-151.
- [10] 许伯慧,严 菲. 黄芩苷及其苷元黄芩素体内过程的研究进展 [J]. 南通大学学报: 医学版, 2010, 30(3): 220-223.
- [11] 杨 琳. 四种黄酮类成分的血中代谢产物研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [12] 徐 君. 黄芩-黄连药对与肠道菌群的相互作用研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [13] 李 涛. 黄芩汤物质基础与药代动力学特征研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [14] 张 艳,刘均娥,张 晶. 平板活菌计数法检测粪便中的肠道菌群 [J]. 首都医科大学学报, 2008, 29(1): 85-86.
- [15] 唐跃年,陈霁晖,林志燕,等. 大鼠灌胃射干合剂后其体内黄芩苷和黄芩素药动学特征 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 24(1): 34-38.
- [16] 龚明涛,虞丽芳,陈庆华,等. 大鼠灌胃黄芩苷及其苷元黄芩素的药动学研究 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 392-394.
- [17] 郭晓宇,杨 琳,陈 颖,等. 黄芩素与黄芩苷大鼠体内药动学比较研究 [J]. 中国药理学杂志, 2008(7): 524-526.
- [18] 李新莉,吴大畅,张翠丽,等. 盐酸林可霉素与头孢拉定对 BALB/c 小鼠肠道菌群影响的比较研究 [J]. 中国药房, 2012, 23(33): 3089-3091.
- [19] 谢莉敏,李 丹,程秀芳,等. 氨苄西林钠和盐酸林可霉素对小鼠肠道菌群的变化规律的影响研究 [J]. 药学研究, 2013, 32(7): 389-390.
- [20] 陈 颖,车庆明,何 红. 左氧氟沙星对黄芩苷血药浓度的影响 [J]. 中国新药杂志, 2006, 14(4): 266-268.