

川芎中阿魏酸和藁本内酯的肠吸收特性分析

闫涛, 姜维, 王琴会, 胡娜, 赵美, 穆薇, 刘新友*
(第四军医大学 唐都医院, 西安 710038)

[摘要] **目的:**研究川芎中阿魏酸和藁本内酯在不同肠段的吸收特征,探索指标成分单体和川芎提取物使用时的吸收变化,考察 P-糖蛋白(P-gp)和多药耐药相关蛋白(MRP)对这 2 个成分吸收的影响。**方法:**采用大鼠单向肠灌注模型,利用 UHPLC 测定灌注液中阿魏酸和藁本内酯的含量变化,分析二者在各肠段、川芎提取物不同质量浓度及含蛋白抑制剂情况下的含量变化情况,计算吸收速率参数(K_a)和有效渗透系数(P_{eff})。**结果:**阿魏酸与藁本内酯在肠道各段均有吸收,藁本内酯的吸收大于阿魏酸。阿魏酸在十二指肠的 $K_a = 1.23 \times 10^{-3} s^{-1}$,与空肠和回肠的吸收无显著性差异。阿魏酸在生药质量浓度 12.5, 20.0, 40.0 $g \cdot L^{-1}$ 下的吸收无显著性差异,但 100.0 $g \cdot L^{-1}$ 下的吸收较前 3 个质量浓度显著降低。阿魏酸在提取物中的吸收明显高于单体直接灌注,与川芎提取物组比较,丙磺舒组的阿魏酸吸收显著性增加。藁本内酯在十二指肠的 $K_a = 3.58 \times 10^{-3} s^{-1}$,肠道的吸收大小排序为回肠 > 十二指肠 $\approx$ 空肠 > 结肠,吸收随川芎提取物质量浓度的增加而降低。与川芎提取物组比较,藁本内酯在维拉帕米组和丙磺舒组的吸收均显著性增加,且丙磺舒组的吸收大于维拉帕米组。**结论:**阿魏酸吸收方式可能为促进扩散,存在载体参与,为 MRP 的底物。藁本内酯主要依靠载体的主动转运,可能是 P-gp 与 MRP 的底物,且受 MRP 影响更大。

[关键词] 川芎; 肠吸收; 在体单向肠灌注模型; 阿魏酸; 藁本内酯; P-糖蛋白; 多药耐药相关蛋白
[中图分类号] R283.6; R945; R285.5; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)13-0024-06
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130024
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.0930.010.html>
[网络出版时间] 2017-04-20 9:30

Analysis of Intestinal Absorption Characteristics of Ferulic Acid and Ligustilide in Chuanxiong Rhizoma

YAN Tao, JIANG Wei, WANG Qin-hui, HU Na, ZHAO Mei, MU Wei, LIU Xin-you*
(Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate absorption characteristics of ferulic acid and ligustilide in Chuanxiong Rhizoma at different intestinal segment, and to explore the absorption changes of monomer and herbal extract, then to investigate the influence of P-glycoprotein (P-gp) and multidrug resistance-associated protein (MRP) on absorption of these two ingredients. **Method:** *In situ* single pass intestinal perfusion model was used and the change of concentration of ferulic acid and ligustilide were determined by UHPLC at various intestinal segments, different concentration of herbal extract, containing protein inhibitor, their absorption rate parameters (K_a) and effective permeability coefficients (P_{eff}) were calculated. **Result:** Ferulic acid and ligustilide were absorbed in all intestinal segments, the absorption of ligustilide was better than ferulic acid. The K_a of ferulic acid in the duodenum was $1.23 \times 10^{-3} s^{-1}$ and there was no significant difference in the jejunum and ileum. There was no significant difference about the absorption of ferulic acid in concentration of herbal extract with 12.5, 20.0,

[收稿日期] 20170110(005)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873440);陕西省中医药管理局项目(13-ZY039)
[第一作者] 闫涛,在读硕士,药师,从事制剂工艺和质量标准研究,Tel:029-84777857,E-mail:yantaotd@163.com
[通讯作者] *刘新友,硕士生导师,副主任药师,从事制剂工艺和质量标准研究,Tel:029-84777648,E-mail:lxylxywy@163.com

40.0 g·L⁻¹, but the absorption at 100 g·L⁻¹ was significantly decreased compared with the former three mass concentration. Absorption of ferulic acid in herbal extract was significantly higher than monomer; compared with the extract group, its absorption in probenecid group was significantly increased. The K_a of ligustilide in the duodenum was $3.58 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, the order of absorption was ileum > duodenum $\approx$ jejunum > colon. The absorption of ligustilide decreased with increasing of mass concentration of herbal extract and significantly increased in groups containing verapamil and probenecid by comparing with the extract group, and the absorption of probenecid group was better than verapamil group. **Conclusion:** The absorption way of ferulic acid may be facilitated diffusion, existing carrier to participate in, ferulic acid is the substrate for MRP. Ligustilide mainly relies on the carrier of active transport, it may be substrates of P-gp and MRP, and it is greatly influenced by MRP.

[**Key words**] Chuanxiong Rhizoma; intestinal absorption; *in situ* single pass perfusion model; ferulic acid; ligustilide; P-glycoprotein; multidrug resistance-associated protein

川芎具有活血行气、祛风止痛的功能,主治胸痹心痛、跌扑肿痛、胸胁刺痛、月经不调、经闭痛经、癥瘕、头痛、腹痛、风湿痹痛^[1]。研究表明川芎主要含有挥发油和非挥发性物质。其中挥发油中的藁本内酯含量最高,约占挥发油总量的 43.7%,具有神经保护、扩张血管、镇痛消炎等药理作用^[2]。在非挥发性物质中,阿魏酸在药材中的质量分数 0.1% ~ 0.2%,该成分含量是 2015 年版《中国药典》(一部)川芎的质控标准,具有镇静的药理作用,可抑制血小板释放 5-羟色胺,阻止颅内、外血管的异常收缩,达到治疗与预防偏头痛的目的^[3-4]。

口服给药是中药临床中最常用且便捷的给药方式,了解中药口服后的肠道吸收机制和部位具有重要意义。在体肠灌注模型作为被 FDA 认可用于研究药物吸收的模型^[5],具有技术成熟、可重复性强等优点。实验过程中低流速灌注对大鼠的肠黏膜损伤最小,保证了实验过程中动物肠道的血液供应和神经支配,测得结果与人体肠道吸收最为相似^[6]。目前,川芎研究报道主要集中在提取工艺和药理学研究方面^[7],早期已有阿魏酸吸收特征的报道,但采用的动物模型和实验方案较为简单,也未考察肠道转运蛋白对其吸收的影响^[8]。本实验拟采用大鼠在体单向肠灌注模型研究川芎药材中阿魏酸和藁本内酯在不同肠段和不同质量浓度下的吸收特征,探索 2 种成分在单体和提取物使用时的吸收变化,考察外排蛋白对其吸收的影响,为开发新的中药制剂和指导中药临床合理使用提供依据。

1 材料

LC-2040C 3D 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),包括 LC-2040 型自动进样器,LC-2040 型四元泵),BT100-1F 型蠕动泵驱动器(保定兰格恒流泵有限公司),RWD510 型动物麻醉系统(深圳市瑞沃德

生命科技有限公司),BP221S 型 1/1 万电子天平(德国 Sartorius 公司)。

藁本内酯、阿魏酸对照品(成都普瑞法科技开发有限公司,批号分别为 15031324,20101221,纯度均 > 98%),盐酸维拉帕米、丙磺舒对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100223-200102,101113-201101,纯度 $\geq 99.5\%$),阿魏酸原料药(国药集团化学试剂有限公司,批号 20101221,纯度 $\geq 98\%$),川芎药材(西安中药饮片厂有限公司,产地四川,批号 150706,经第四军医大学中药研究所王四旺教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

清洁级健康雄性 SD 大鼠,体重 200 ~ 240 g,购自于第四军医大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(军)字第 2007-007 号,经第四军医大学唐都医院医学伦理委员会批准,编号 TDLL-2016241。

2 方法与结果

2.1 药材提取物的制备^[9] 川芎药材粉碎过筛,制成粗粉,取药材粗粉 20 g 置于圆底烧瓶中,加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.5 h,过滤后合并提取液,减压浓缩,得 2.0 g·mL⁻¹ 川芎流浸膏(经 UHPLC 测定,流浸膏中阿魏酸、藁本内酯质量浓度分别约为 3.0,112.0 g·L⁻¹),置于 4 ℃ 冰箱冷藏备用。

2.2 溶液的配制

2.2.1 川芎灌注液 精密吸取川芎流浸膏适量,至于 100 mL 棕色量瓶中,用 Krebs-Ringer 试液(K-R 试液)^[10] 稀释至刻度,超声使溶解后过滤,得生药质量浓度分别为 12.5,20.0,40.0,100.0 g·L⁻¹ 的川芎灌注液。

2.2.2 单体灌注液 取阿魏酸原料药 30 mg,置于

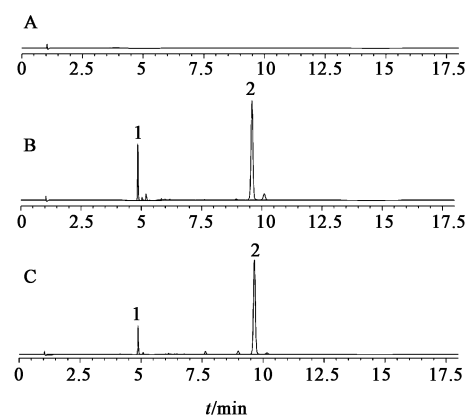
10 mL 棕色量瓶中,加乙醇稀释至刻度,得质量浓度 $3.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 储备液。精密称取藁本内酯对照品 350 mg 置于 10 mL 棕色量瓶中,加乙醇稀释至刻度,得 $35.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 储备液。精密吸取上述 2 种储备液 1.0 mL,分别置于 100 mL 棕色量瓶中,用 K-R 试液定容至刻度,分别得 $30.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 阿魏酸单体供试液和 $350.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 藁本内酯单体供试液。

2.2.3 蛋白抑制剂储备液 精密称定盐酸维拉帕米和丙磺舒对照品各 20 mg(盐酸维拉帕米 105 ℃干燥至恒重后使用),分别置于 10 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,得 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 储备液,备用。

2.2.4 空白肠灌流液 取 K-R 试液适量,按大鼠在体单向肠灌流试验方法操作,收集流出的灌流液,即得。

2.3 川芎灌流液的含量测定

2.3.1 色谱条件及专属性考察 InfinityLab Poroshell 120 EC- C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 100 mm, 2.7 μm),柱前配有 UHPLC 保护柱(4.6 mm × 5 mm, 2.7 μm),流动相 0.2% 甲酸水溶液(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0 ~ 2 min, 30% B; 2 ~ 4 min, 30% ~ 65% B; 4 ~ 11 min, 65% B; 11 ~ 15 min, 65% ~ 30% B; 15 ~ 18 min, 30% B),检测波长 321 nm,流速设定 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温为室温,进样量 3 μL 。见图 1。结果表明该方法的专属性良好,内源性物质对待测物的测定未造成干扰。



A. 空白肠灌流液;B. 对照品;C. 供试品;1. 阿魏酸;2. 藁本内酯
图 1 川芎灌流液的 UHPLC

Fig.1 UHPLC profiles of Chuanxiong Rhizoma intestinal perfusate

2.3.2 线性关系考察 分别精密称取阿魏酸对照品 2.5 mg,藁本内酯对照品 10.0 mg,置于 25 mL 棕色量瓶中,用甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,得质量浓度分别为 100,400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液。分别精密吸取一定量储备液置于棕色量瓶中,加 K-R 试液定容,摇匀,制成阿魏酸质量浓度分别为 2.0,5.0,

10.0,20.0,40.0,60.0,100.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和藁本内酯质量浓度分别为 8.0,20.0,40.0,80.0,160.0,240.0,400.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列混合对照品溶液。按 2.3.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得阿魏酸、藁本内酯回归方程分别为 $Y = 15\,298.7X - 528.945 (r = 0.999\,6)$, $Y = 2\,613.74X - 1\,305.87 (r = 0.999\,6)$,线性范围依次为 2.0 ~ 100.0,8.0 ~ 400.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3.3 精密度和准确度考察 新鲜配制含混合对照品低、中、高质量浓度的肠灌流液(阿魏酸约 15, 30,60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和藁本内酯约 60,120,240 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),按 2.3.1 项下色谱条件测定,1 d 内重复 6 次,计算阿魏酸峰面积的 RSD 分别为 0.5%,0.4%,0.2%;藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 0.4%,0.5%,0.7%,表明该方法精密度良好。3 组质量浓度下阿魏酸准确度分别为 103.95%,101.41%,99.68%,藁本内酯准确度分别为 103.50%,97.54%,101.57%,表明该方法的准确度良好。

2.3.4 回收率考察 在空白肠灌流液中加入混合对照品溶液适量,配制低、中、高质量浓度的溶液(阿魏酸约 20,40,80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和藁本内酯约 70,140,280 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),按 2.3.1 项下色谱条件测定,结果高质量浓度肠灌流液中阿魏酸和藁本内酯平均回收率分别为 92.92% 和 91.43%,RSD 依次为 1.3% 和 1.8%;中质量浓度肠灌流液中阿魏酸和藁本内酯平均回收率分别为 97.28% 和 92.38%,RSD 依次为 1.3% 和 1.8%;低质量浓度肠灌流液中阿魏酸和藁本内酯平均回收率分别为 103.12% 和 94.71%,RSD 依次为 0.7% 和 1.6%。表明上述方法符合要求。

2.3.5 pH 稳定性考察 用 $1.0\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 和 $1.0\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 溶液调节 K-R 试液 pH,得 pH 分别为 6.0,7.0 和 8.0 的 K-R 试液。取一定量川芎提取物加入上述 3 种不同 pH 的溶液中,37 ℃ 条件下水浴放置 3 h,测定样品中 2 种成分的含量,计算阿魏酸残存率分别为 $(97.14 \pm 1.25)\%$, $(95.72 \pm 0.91)\%$, $(89.80 \pm 0.82)\%$ 。藁本内酯残存率分别为 $(98.64 \pm 0.78)\%$, $(90.96 \pm 0.61)\%$, $(88.25 \pm 1.72)\%$ 。表明阿魏酸和藁本内酯在不同 pH 的 K-R 试液中的稳定性存在一定差异,两组分均在 pH 6.0 的 K-R 试液中最稳定。

2.4 大鼠在体单向肠灌流试验 取禁食(自由饮水)16 h 的雄性 SD 大鼠,异氟烷吸入麻醉后仰卧位固定,沿腹中线打开腹腔,小心分离出待考察肠段,

即十二指肠、空肠、回肠和结肠。十二指肠、空肠和结肠的长度约 10 cm,回肠的长度约 4 cm。于两端切口、插管结扎,操作当中避免破坏肠系膜血管,用预热至 37 ℃ 的生理盐水洗净肠道内容物。取预热至 37 ℃ 的供试液以 1.0 mL·min⁻¹ 的流速灌流 10 min,将流速调至 0.2 mL·min⁻¹,在正式试验开始前,预平衡 30 min。进口端用已知质量装有供试液的小瓶以 0.2 mL·min⁻¹ 的流速进行灌流,出口端放置已知质量的小瓶,每 10 min 收集 1 份肠灌流液,同时记录下供试液小瓶与收集灌流液小瓶的质量。灌流结束后将供试肠段剪下,测量其长度和内径^[11]。取待测灌流液与甲醇稀释后涡旋 3 min,混匀,8 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,进样分析。采用质量法^[12] 对灌流液体积进行校正,消除肠道对灌流液水分吸收造成的体积变化。计算吸收速率参数(K_a),有效渗透系数(P_{eff})和累计吸收量。

$$K_a = \frac{\left(1 - \frac{C_{\text{out}} V_{\text{out}}}{C_{\text{in}} V_{\text{in}}}\right) Q}{\pi l r^2}$$

$$P_{\text{eff}} = \frac{-Q \ln \frac{C_{\text{out}} V_{\text{out}}}{C_{\text{in}} V_{\text{in}}}}{2 \pi r l}$$

$$\sum_{k=1}^9 a_k = (C_{\text{in}} V_{\text{in}} - C_{\text{out}} V_{\text{out}})_k$$

式中 V_{in} 与 V_{out} 分别为灌流液入口与出口的供试液体积(假定灌流液密度均为 1 g·cm⁻³), C_{in} 和 C_{out} 分别为进口和出口灌流液的质量浓度, l 与 r 分别为供试肠段的长度与内径, Q 为灌流速度, a 为吸收量, k 为时间序列。利用 SPSS 13.0 软件处理数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,当 $P < 0.05$ 表示具有显著性差异。

2.5 川芎提取物的肠道吸收特征分析

2.5.1 不同肠段的吸收特征 取 20 g·L⁻¹ 川芎灌流液,按 2.4 项下方法进行试验,采用多通路改进的大鼠单向肠灌流模型^[13] 考察川芎中阿魏酸和藁本内酯在不同肠段中的吸收情况,见表 1。结果表明阿魏酸在十二指肠、空肠和回肠的吸收无显著性差异,但都显著高于结肠处($P < 0.05$)。藁本内酯在肠道的吸收具有一定差异,吸收大小排序为回肠 > 十二指肠 ≈ 空肠 > 结肠。为了消除不同肠段吸收间差异的影响,后续试验选取十二指肠作为研究对象。

2.5.2 不同质量浓度下的吸收特征 取生药质量浓度分别为 12.5,20.0,40.0,100.0 g·L⁻¹ 的川芎灌流液,按 2.4 项下方法进行试验,见表 2。结果显示阿魏酸与藁本内酯在肠道各段均有吸收,但藁本

表 1 川芎提取物在不同肠段的吸收参数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Absorption parameters of Chuanxiong Rhizoma extract at different intestinal segments ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

肠段	阿魏酸		藁本内酯	
	$K_a (\times 10^{-3})$	$P_{\text{eff}} (\times 10^{-4})$	$K_a (\times 10^{-3})$	$P_{\text{eff}} (\times 10^{-4})$
	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹
十二指肠	1.23 ± 0.25 ¹⁾	2.51 ± 0.92 ¹⁾	3.58 ± 0.12 ^{1,2)}	7.59 ± 1.01 ^{1,2)}
空肠	1.25 ± 0.15 ¹⁾	2.60 ± 0.67 ¹⁾	3.60 ± 0.13 ^{1,2)}	7.69 ± 0.92 ^{1,2)}
回肠	1.28 ± 0.21 ¹⁾	2.72 ± 0.48 ¹⁾	3.96 ± 0.13 ¹⁾	9.80 ± 0.83 ¹⁾
结肠	0.78 ± 0.17	1.61 ± 0.30	2.93 ± 0.17 ²⁾	6.74 ± 0.78 ²⁾

注:与结肠吸收参数相比¹⁾ $P < 0.05$,与回肠吸收参数相比²⁾ $P < 0.05$ 。

内酯在各质量浓度组下的吸收明显好于阿魏酸($P < 0.05$)。阿魏酸在 12.5,20.0,40.0 g·L⁻¹ 下的吸收无显著性差异,但 100.0 g·L⁻¹ 下的吸收较前 3 个质量浓度显著降低($P < 0.05$),存在饱和性,提示其主要吸收方式可能为存在载体参与的促进扩散。随着质量浓度的增加,藁本内酯的吸收明显降低($P < 0.05$),说明其吸收方式可能是依靠载体的主动转运。

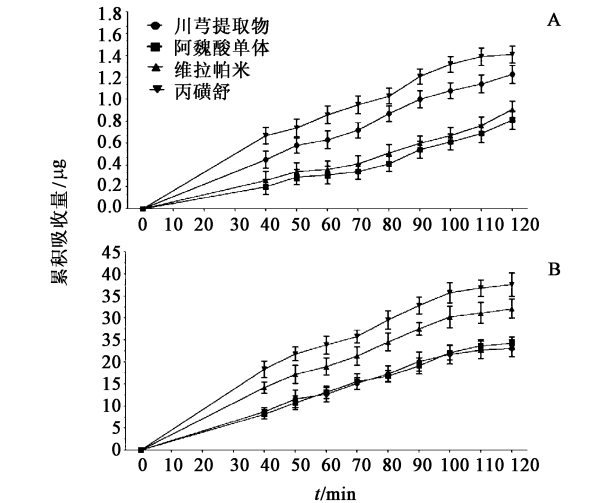
表 2 不同质量浓度下川芎灌流液中指标成分的吸收参数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Absorption parameters of index components in Chuanxiong Rhizoma intestinal perfusate at different concentrations ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

质量浓度/g·L ⁻¹	阿魏酸		藁本内酯	
	$K_a (\times 10^{-3})$	$P_{\text{eff}} (\times 10^{-4})$	$K_a (\times 10^{-3})$	$P_{\text{eff}} (\times 10^{-4})$
	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹
12.5	1.34 ± 0.21	2.79 ± 0.87	4.35 ± 0.20	9.71 ± 1.72
20.0	1.23 ± 0.25	2.51 ± 0.92	3.58 ± 0.12	7.59 ± 1.01
40.0	1.16 ± 0.19	2.24 ± 0.81	2.16 ± 0.15	5.26 ± 1.43
100.0	0.78 ± 0.16	1.47 ± 0.75	1.07 ± 0.17	2.16 ± 1.73

2.5.3 单体和蛋白抑制剂的吸收变化 取 2.2.2 项下的阿魏酸与藁本内酯单体储备液适量,置于棕色量瓶中,用 K-R 试液稀释并定容,得与 20 g·L⁻¹ 川芎灌流液中两组分含量基本相同的单体肠灌流液。分别取 2.2.3 项下盐酸维拉帕米和丙磺舒蛋白抑制剂储备液适量,至于棕色量瓶中,用 20 g·L⁻¹ 川芎灌流液定容至刻度,摇匀,得含盐酸维拉帕米和丙磺舒各 100 μmol·L⁻¹ 的川芎肠灌流液。按 2.4 项下方法进行试验,与同质量浓度下的川芎提取物灌流结果进行比较,其累积吸收量情况见图 2,吸收参数见表 3。结果表明阿魏酸在提取物中的吸收明显

高于单体直接灌流 ($P < 0.05$), 说明川芎提取物中的某些物质可大大提升阿魏酸在肠道内的吸收。与阿魏酸单体灌流组相比, 维拉帕米组的阿魏酸吸收虽然有所增加, 但不具有统计学意义; 与川芎提取物组相比, 丙磺舒组的阿魏酸吸收显著性增加 ($P < 0.05$), 表明阿魏酸受多药耐药相关蛋白 (MRP) 影响较大, 可能是 MRP 的底物。藁本内酯单体和川芎提取物的吸收不具有显著性差异。与川芎提取物组相比, 维拉帕米组和丙磺舒组藁本内酯的吸收均显著性增加 ($P < 0.05$), 说明藁本内酯可能是 P-糖蛋白 (P-gp) 与 MRP 的底物, 吸收受这 2 种外排蛋白的影响。维拉帕米组与丙磺舒组的藁本内酯吸收量也具有显著性差异 ($P < 0.05$), 提示藁本内酯受 MRP 的影响大于 P-gp。



A. 阿魏酸; B. 藁本内酯

图 2 阿魏酸和藁本内酯累积吸收曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Cumulative absorption curves of ferulic acid and ligustilide ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 3 川芎提取物、指标成分单体及含蛋白抑制剂的吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Absorption parameters of different groups with or without membrane protein inhibitors ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	阿魏酸		藁本内酯	
	$K_a (\times 10^{-3})$ /s ⁻¹	$P_{eff} (\times 10^{-4})$ /cm·s ⁻¹	$K_a (\times 10^{-3})$ /s ⁻¹	$P_{eff} (\times 10^{-4})$ /cm·s ⁻¹
川芎提取物	1.23 ± 0.25	2.51 ± 0.92	3.58 ± 0.12	7.59 ± 1.01
阿魏酸单体	0.56 ± 0.12	1.61 ± 0.37	—	—
藁本内酯单体	—	—	3.46 ± 0.61	7.86 ± 1.21
维拉帕米	0.76 ± 0.35	1.72 ± 0.62	5.81 ± 1.31	12.26 ± 1.31
丙磺舒	1.75 ± 0.54	4.12 ± 0.71	7.35 ± 1.41	15.84 ± 0.79

3 讨论

P_{eff} 是决定药物在肠道吸收速度与程度的重要

参数, 当化合物的 $P_{eff} > 0.2 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 可认为该化合物易于吸收^[14]。结合本研究结果可知, 川芎中阿魏酸和藁本内酯在肠道内都易于吸收, 藁本内酯的吸收明显好于阿魏酸, 阿魏酸在小肠内没有特定的吸收部位, 但藁本内酯在回肠段吸收最好。刘晓峰等^[15] 研究发现阿魏酸单体和川芎提取物灌胃大鼠后的血浆药代动力学参数具有显著性差异, 结合本研究中单体与川芎提取物的灌流结果可知, 中药可能存在许多物质的相互作用, 改变了药物在体内的药代动力学过程。目前中药肠灌流试验多以化学单体为研究对象, 这提醒后续应充分重视中药提取物的研究, 两者不可相互替代。阿魏酸的肠吸收多有报道, 且称其机制为被动扩散^[8], 该结论较为笼统, 未能考察阿魏酸在极高剂量下的吸收特征。由本研究结果可知, 阿魏酸吸收参数虽然不随剂量的增加而显著改变, 但极高剂量下会出现吸收饱和现象, 说明其吸收存在载体参与, 应该为被动转运中的促进扩散。

药物转运蛋白在药物吸收、分布过程中有着非常重要的作用。P-gp 与 MRP 分别是多药耐药蛋白和多药耐药辅助蛋白, 在肠道中的主要功能是将已吸收进入细胞的药物转运回肠腔内, 从而降低口服药物的生物利用度。这些转运蛋白同样也存在于多个器官和组织当中, 决定了药物在不同部位的分布程度。维拉帕米是 P-gp 的典型抑制剂, 丙磺舒是 MRP 的抑制剂^[16-17]。本实验中川芎提取物加入丙磺舒后, 阿魏酸和藁本内酯的吸收均显著性提高, 提示这 2 种物质可能是 MRP 的底物。提取物加入维拉帕米后, 仅藁本内酯的吸收显著性上升, 说明藁本内酯可能为 P-gp 的底物。结合以上结论可知, 川芎在临床使用当中与塞利洛尔、维拉帕米、地塞米松、地高辛、酮康唑、西咪替丁等影响转运蛋白的药物联用时, 应考虑吸收参数的变化。在川芎新制剂设计中, 可以利用转运蛋白的特征进行药物修饰, 以降低其与外排蛋白的结合, 达到增加药物吸收的目的; 还可利用某些药物与其转运蛋白之间的相互抑制关系, 提高其生物利用度, 但也要注意联合用药时毒副作用的增加。鉴于离体与在体试验可能存在的差异, 后续拟采用 Caco-2 细胞模型从离体细胞角度进一步佐证本实验的结论。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 40-41.
[2] 左爱华, 王莉, 肖红斌. 藁本内酯药理学和药代动力

学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (22) : 3350-3354.

[3] 张翠英,章洪,戚琼华. 川芎的有效成分及药理研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41 (10) : 2264-2266.

[4] 王光浩,张敬芳. 阿魏酸钠对血管内皮细胞的作用及其机制研究[J]. 微循环学杂志, 2015, 25 (1) : 71-72.

[5] 许永崧,韩晓凤,龚慕辛,等. 单向在体肠灌流在中药研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (1) : 211-218.

[6] Dezani T M,Dezani A B,Junior J B, et al. Single-Pass Intestinal Perfusion (SPIP) and prediction of fraction absorbed and permeability in humans; a study with antiretroviral drugs [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2016, 104 : 131-139.

[7] LI H, ZHANG C, FAN R, et al. The effects of Chuanxiong on the pharmacokinetics of warfarin in rats after biliary drainage [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 193 (1) : 117-124.

[8] 宋洪涛,郭涛,张跃新,等. 阿魏酸在大鼠体内肠吸收动力学的研究[J]. 中草药, 2005, 36 (10) : 78-81.

[9] 郑琴,伍振峰,邱玲玲,等. 大川芎方中川芎提取纯化工艺及其镇静镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (15) : 6-9.

[10] 梁诗婷,邢丹丹,梁红萍,等. 复方丹酚滴丸中冰片对丹酚酸大鼠在体肠吸收特性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (12) : 98-101.

[11] 黄嗣航,龙晓英,袁飞,等. 酚红法和改良质量法分别研究葛根素的大鼠在体肠吸收机制[J]. 广东药学院学报, 2012, 28 (6) : 603-607.

[12] 聂淑芳,潘卫三,杨星钢,等. 对大鼠在体肠单向灌流技术中质量法的评价[J]. 中国新药杂志, 2005, 14 (10) : 1176-1179.

[13] Dahana A, West B T, Amidon G L. Segmental-dependent membrane permeability along the intestine following oral drug administration; Evaluation of a triple single-pass intestinal perfusion (TSPIP) approach in the rat [J]. Eur J Pharm Sci, 2009, 36 (2/3) : 320-329.

[14] Cook T J, Shenoy S S. Intestinal permeability of chlorpyrifos using the single-pass intestinal perfusion method in the rat [J]. Toxicology, 2003, 184 (2/3) : 125-133.

[15] 刘晓峰,武新安,魏玉辉,等. 阿魏酸和川芎汤剂中阿魏酸在大鼠体内的吸收动力学研究[J]. 中药材, 2007, 30 (7) : 831-833.

[16] 董宇,杨庆,朱晓新. 常见药物肠道吸收的转运蛋白[J]. 中国天然药物, 2008, 6 (3) : 161-167.

[17] Arana M R, Tocchetti G N, Rigalli J P, et al. Physiological and pathophysiological factors affecting the expression and activity of the drug transporter MRP2 in intestine. Impact on its function as membrane barrier [J]. Pharmacol Res, 2016, 109 : 32-44.

[责任编辑 刘德文]