

# 体循环肠灌注法研究红禾麻提取物在类风湿性关节炎大鼠与正常大鼠体内的肠吸收差异

李莹,康宁芳,巩仔鹏,陈思颖,兰燕宇\*

贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室  
民族药与中药开发应用教育部工程研究中心药学院,贵阳 550004

**摘要:**比较红禾麻提取物在 AA 大鼠与正常大鼠体内的肠吸收差异。实验采用体循环肠灌注法,建立大鼠 RA 模型,应用 UPLC-MS/MS 检测肠灌注液中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、木犀草苷的含量,探究各成分在不同因素(pH 值、药物浓度、肠段、胆汁和 P-gp 抑制剂)下的肠吸收特性。结果表明,槲皮苷的吸收方式为主动转运,其余 7 个成分的吸收方式为被动扩散。除绿原酸、隐绿原酸外,正常状态下各成分以回肠吸收最好,病理状态下以十二指肠吸收最好,推测药物吸收的特定部位会受疾病状态的影响而发生改变。各成分的吸收均受 pH、胆汁和 P-gp 的影响,其中,槲皮苷可能是 P-gp 的底物。RA 能影响红禾麻提取物在大鼠体内的肠吸收,其作用机制尚需进一步研究。

**关键词:**红禾麻提取物;在体循环肠灌注法;类风湿性关节炎大鼠;肠吸收特性

中图分类号:R945

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)11-1896-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.11.007

## Intestinal absorption difference of *Laportea bulbifera* extract in rats with rheumatoid arthritis and normal rats by *in situ* intestinal circulating perfusion model

LI Ying, KANG Ning-fang, GONG Zi-peng, CHEN Si-ying, LAN Yan-yu\*

Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou, State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Provincial Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

**Abstract:** To compare the intestinal absorption characteristics of *Laportea bulbifera* extract in AA and normal rats. This experiment adopts the systemic intestinal perfusion method, set up big rats model of rheumatoid arthritis, application of UPLC-MS/MS detection of intestinal perfusion fluid in neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, rutin, isoquercetin, quercetin, kaempferol-3-O-rutinoside and galuteolin content, explore various components in the different factors (pH value, the concentration of the drug, the intestine, bile and P-gp inhibitors) under the intestinal absorption characteristics. The results showed that the absorption mode of quercetin was active transport, and the absorption mode of the other 7 components was passive diffusion. Except chlorogenic acid and cryptochlorogenic acid, the best absorption of each component was in ileum under normal condition and duodenum under pathological condition, so it was speculated that the specific sites of drug absorption would be affected by the disease. The absorption of each component is affected by pH, bile and p-gp, among which quercetin may be the substrate of p-gp. Rheumatoid arthritis can affect the intestinal absorption of *Laportea bulbifera* extract in rats, and its mechanism needs to be further studied.

**Key words:** *Laportea bulbifera* extract; *in situ* intestinal circulation perfusion model; rheumatoid arthritis rats; intestinal absorption characteristics

收稿日期:2019-06-12 接受日期:2019-10-22

基金项目:国家自然科学基金(81560693、U1812403);贵州省民族药药效物质基础研究科技创新人才团队(黔科合平台人才[2016]5613);中央引导地方科技专项(黔科中引地[2018]4006)

\*通信作者 Tel:86-851-86908468;E-mail:yanyu626@126.com

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种常见的全身性免疫病,其主要症状是多滑膜关节炎和关节外损伤,它通常会导致肿胀、发红、疼痛、关节损伤畸形等,严重危害病人的健康<sup>[1]</sup>。由于目前该病的发病机制仍不明确,临床治疗往往以西药为主,作用机制呈现单一的特点,因此亟需新型安全、疗效独特的治疗药物。在治疗 RA 方面,我国传统医学通过“整体观念、辨证论治”,将中药应用于类风湿性关节炎的治疗,展现了其“多成分、多环节、多途径、多靶点”的作用特点和治疗优势。

红禾麻又名“红活麻”,系荨麻科艾麻属植物珠芽艾麻 *Laportea bulbifera* (Sieb. et Zucc.) Wedd. 的新鲜或干燥全草<sup>[2]</sup>,是贵州地区用于治疗风湿及类风湿性关节炎的常用苗药,其主要化学成分包括内酯类、鞣质类、黄酮类及苯丙素类等<sup>[3-6]</sup>。红禾麻药用价值较高,具有抗炎、镇痛、降血脂、祛风湿、免疫抑制等作用<sup>[7,8]</sup>。目前,关于红禾麻的文献报道主要集中在药理作用及化学成分等方面,未见红禾麻体内吸收及其影响因素的报道,尤其是 RA 病理状态下的肠吸收研究尚属空白。Gong 等<sup>[9]</sup>认为,疾病状态会影响中药的药代动力学特征,生理及病理状况的变化在一定程度上会影响体内药物代谢酶、转运蛋白、细胞膜通透性、微生物菌群等的改变,导致中药在机体内的吸收、分布、代谢、排泄过程发生显著改变。故本研究采用在体循环肠灌注法,考察红禾麻提取物中 8 种代表成分在生理病理状态下的肠吸收差异,探讨不同因素对其肠吸收特性的影响,为红禾麻临床治疗 RA 的合理用药提供参考。

## 1 仪器与试剂

Acquity UPLC 超高压液相-三重四级杆串联质谱仪(美国 Waters 公司,包括 Masslynx 4.1 质谱仪工作站);PV-200 型足趾容积测量仪(成都泰盟生物有限公司);HL-2S 型恒流泵(上海青浦沪西仪器厂);红禾麻药材采收于贵州省贵安新区,由贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为荨麻科艾麻属植物红禾麻 *Laportea bulbifera* (Sieb. et Zucc.) Wedd. 的新鲜全草;新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸对照品(江西佰草源生物科技有限公司,批号分别为 BCY-0921, BCY-0414, BCY-0920, 纯度均  $\geq 98\%$ );芦丁、异槲皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-*O*-芸香糖苷、木犀草苷、葛根素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100080-201610、112007-201602、111538-201606、111809-201403、111720-201408、110752-201514, 纯

度均  $\geq 98\%$ );完全弗式佐剂(CFA, sigma 公司,批号:SLBW5971);乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯,德国 Merck 公司);水为超纯水。

健康雄性 SD 大鼠,SPF 级,体重 220 ~ 250 g,购于长沙天勤生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-0011。经贵州医科大学实验动物伦理委员会批准,批准号:1503017。

## 2 方法

### 2.1 分析条件

#### 2.1.1 色谱条件

色谱柱 Waters BEH  $C_{18}$  (2.1 mm  $\times$  50 mm, 1.7  $\mu$ m);流速 0.35 mL/min;柱温 45  $^{\circ}$ C;流动相 0.1% 甲酸乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱条件(0 ~ 0.5 min, 5% ~ 9% A; 0.5 ~ 2.0 min, 9% ~ 15% A; 2.0 ~ 4.0 min, 15% ~ 20% A; 4.0 ~ 4.5 min, 20% ~ 95% A; 4.5 ~ 5.0 min, 95% ~ 5% A),进样体积 3  $\mu$ L。

#### 2.1.2 质谱条件

电喷雾电离源(ESI);毛细管电压 3 KV;离子源温度 150  $^{\circ}$ C;去溶剂气温度 400  $^{\circ}$ C;去溶剂气  $N_2$ ,流速 800 L/h;反吹气  $N_2$ ,流速 50 L/h;质谱数据采集及处理软件为 MassLynx V 4.1 工作站;扫描方式为单离子监测(SIR)。监测离子: $m/z$ (-)353.3(新绿原酸); $m/z$ (-)353.1(绿原酸); $m/z$ (-)353.2(隐绿原酸); $m/z$ (-)609.1(芦丁); $m/z$ (-)463.0(异槲皮苷); $m/z$ (+)449.1(槲皮苷); $m/z$ (-)593.0(山奈酚-3-*O*-芸香糖苷); $m/z$ (-)447.3(木犀草苷); $m/z$ (+)417.0(葛根素);锥孔电压分别为:25、35、35、50、45、30、50、35、25。

### 2.2 溶液的配制

K-R 营养液<sup>[11]</sup>:精密称取 NaCl 7.8 g, KCl 0.35 g,  $NaHCO_3$  1.37g,  $NaH_2PO_4$  0.32 g,  $MgCl_2$  0.02 g,  $CaCl_2$  0.37 g, 葡萄糖 1.40 g, 溶解在少量水中,氯化钙单独溶解并逐滴加入,蒸馏水溶解后定容至 1 L。

内标溶液:精密称取葛根素对照品适量,加甲醇溶解并定容,得浓度为葛根素(1.280 mg/mL)的储备液。置于冰箱-20  $^{\circ}$ C 保存,备用。

混合对照品溶液:精密称取对照品适量,加甲醇溶解并定容,得浓度分别为新绿原酸(1.024 mg/mL)、绿原酸(1.114 mg/mL)、隐绿原酸(1.086 mg/mL)、芦丁(0.508 mg/mL)、异槲皮苷(0.538 mg/mL)、槲皮苷(0.710 mg/mL)、山奈酚-3-*O*-芸香糖苷(0.531 mg/mL)、木犀草苷(1.022 mg/mL)的储备

液。取上述储备液适量,37 °C 氮气下吹干,空白 K-R 营养液溶解并逐级稀释至所需质量浓度,得混合系列标准溶液。置于冰箱-20 °C 保存,备用。

空白肠循环液:取 37 °C K-R 液 50 mL,置于量筒中,进行在体肠灌注试验,循环 3 h,即得。

红禾麻提取物供试液<sup>[10,11]</sup>:取红禾麻药材 5 kg 干燥打粗粉并均匀混合,按文献方法<sup>[6]</sup>回流提取,即得红禾麻固体提取物,提取率为 2.87%。取上述提取物适量,加入适量的 K-R 营养液,超声 30 min 溶解,5 000 rpm 离心 10 min,取上清液,即得 2.5、5.0、10.0 mg/mL 的供试液。经 UPLC-MS/MS 法测定,红禾麻提取物中各成分的含量分别为新绿原酸(2.32%),绿原酸(6.54%),隐绿原酸(4.68%),芦丁(11.45%),槲皮苷(0.63%),异槲皮苷(2.15%),山奈酚-3-O-芸香糖苷(2.30%),木犀草苷(1.04%)。

## 2.3 大鼠在体肠吸收试验

### 2.3.1 大鼠分组与造模

将 SD 大鼠随机分为对照组和模型组。根据文献方法<sup>[12]</sup>,模型组采用 0.1 mL 完全弗氏佐剂(CFA)注射于每只大鼠右后足跖皮内,使其致炎,正常组注射相应体积的生理盐水,并在 7 天后再次免疫,持续 21 天后,佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)大鼠模型成功复制。由于 AA 大鼠模型的临床表现、病理机制、免疫学变化等方面与 RA 有诸多相似性,故选用此模型。

参照文献方法<sup>[13]</sup>,分别于大鼠造模前及造模后第 9、13、17、21 天按照关节炎指数(AI)评分标准对 AA 大鼠进行评估,累计评分 > 6 分的大鼠用于实验。评分标准见表 1。

表 1 大鼠关节指数评分标准(0~4 级)

Table 1 Rat arthritis index scoring criteria (grade 0-4)

分数 Score	关节情况 Joint situation
0 分 Zero	正常,无关节炎 Normal, no arthritis
1 分 One	关节有红色斑点或轻度肿胀 Red spots or mild swelling of joints
2 分 Two	关节中度红肿 Moderate joint redness
3 分 Three	关节重度红肿 Severe redness and swelling of joints
4 分 Four	关节严重红肿且不能负重 Joints are severely inflamed and do not bear weight

### 2.3.2 在体循环肠灌注试验

正常和 AA 模型大鼠禁食不禁水 12 h,麻醉(腹

腔注射 10% 水合氯醛,3.7 mL/kg)后固定于手术台上,其余按照文献方法操作<sup>[14,15]</sup>,使试验肠段与恒流泵形成回路。取 37 °C 红禾麻提取物溶液 50 mL,以 5 mL/min 流速循环 15 min 后,将流速调节为 2.5 mL/min,立刻读出肠循环液的体积并从循环液量筒中取样 1 mL,作为零时间的样品。另需向量筒中补加 37 °C K-R 营养液 1 mL,其后于 30、60、90、120、150、180 min 时同法读数,取样并补加 K-R 液,循环 3h 后终止。待循环完毕后,用空气排净管路和肠道内液体,并量取其体积,即为管路、肠道的死体积。死体积加上各时间点的量筒读数体积即为该时间点循环液体积。以此方法进行肠循环液的体积校正,进而计算各时间点药物的量,即剩余药量  $P_m$  ( $\mu\text{g}$ )。

$$P_m = C_m \times V_m + 1.0 \times \sum_{i=1}^{n-1} C_{i1}$$

$$A\% = (P_0 - P_{t3}) / P_0 \times 100\%$$

其中, $P_m$ 为  $t_n$  时刻循环液中的剩余药量; $C_{i1}$ 为循环液药物初始浓度; $V_{i1}$ 为循环液初始体积; $C_m$  ( $i = n$ )为  $t_n$  时刻肠循环液药物浓度; $V_m$ 为  $t_n$  时刻肠循环液体积; $P_0$ 为 0 h 时的剩余药量; $P_{t3}$ 为 3 h 时的剩余药量; $A$ 为 3 h 累积吸收转化率。以剩余药量的自然对数对取样时间  $t$  作图,所得的直线斜率即为吸收速率常数( $K_a$ )。

## 2.4 样品处理方法

取样品 200  $\mu\text{L}$ ,加入葛根素(1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )内标溶液 20  $\mu\text{L}$ ,0.1% 甲酸水溶液 40  $\mu\text{L}$ ,加入甲醇 400  $\mu\text{L}$ ,涡混 3 min,超声(80 Hz)10 min,12 000 rpm 离心 10 min。取上清液于 37 °C 氮气下吹干,残渣加入 100  $\mu\text{L}$  50% 甲醇水溶解,涡混 3 min,超声(80 Hz)10 min,12 000 rpm 离心 10 min,取上清液 UPLC-MS/MS 进样分析。

## 3 结果

### 3.1 方法学考察

#### 3.1.1 专属性

取空白肠循环液、空白肠循环液加内标及混合对照品溶液、含红禾麻提取物的实测样品,按“2.4”、“2.1”项下操作,得到色谱图 A、B、C。结果表明 8 种成分分离完全,空白肠循环液无干扰,各成分及葛根素的保留时间(RT)分别为 1.12、1.49、1.58、1.86、2.89、3.04、3.17、3.47、3.70 min,该法的专属性良好。

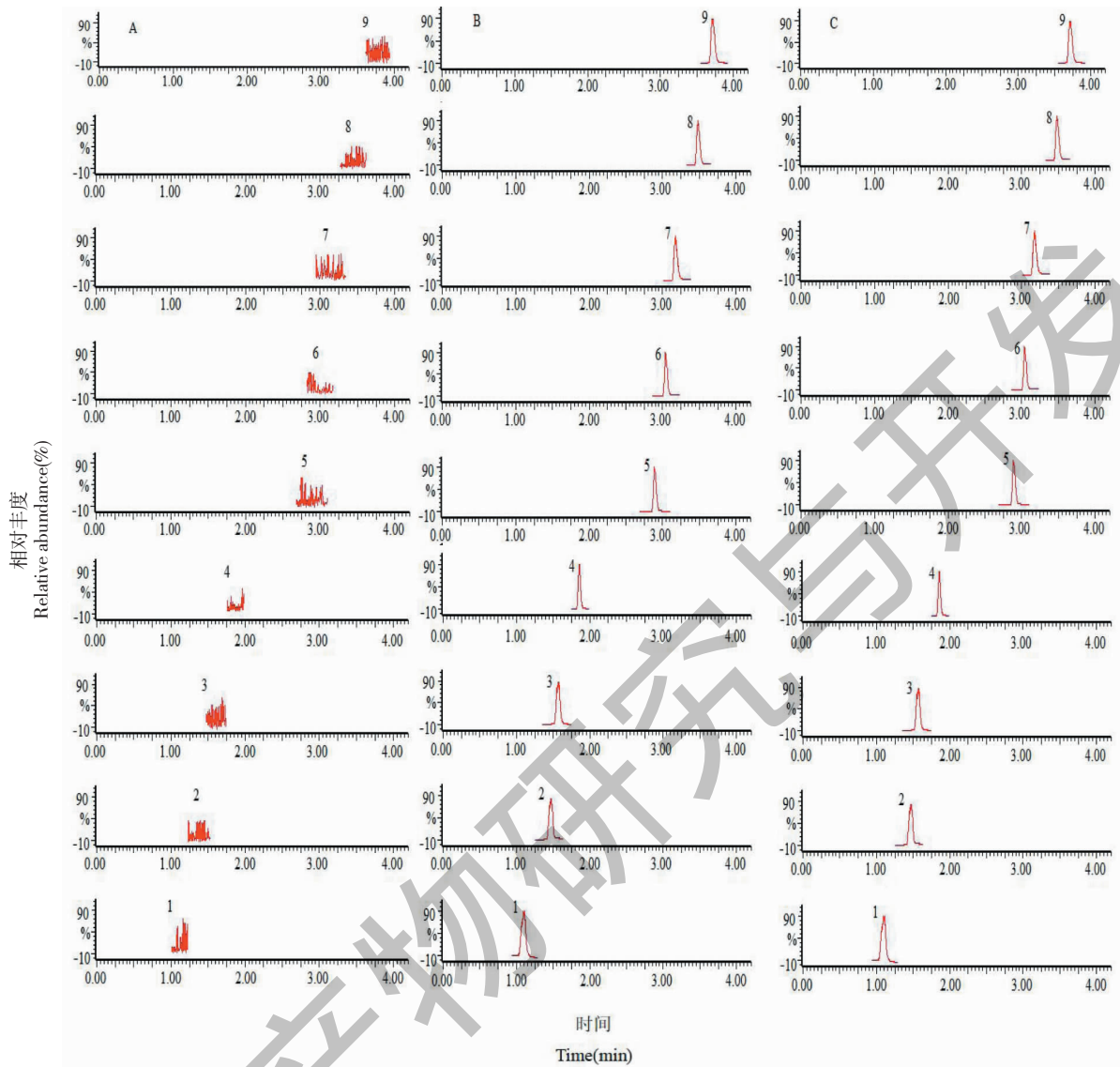


图 1 典型色谱图

Fig. 1 Typical chromatogram

注:A:空白肠循环液;B:空白肠循环液加对照;C:实测肠循环液样品;1. 新绿原酸;2. 绿原酸;3. 隐绿原酸;4. 葛根素;5. 芦丁;6. 异槲皮苷;7. 槲皮苷;8. 山奈酚-3-O-芸香糖苷;9. 木犀草苷;Note:A:blank solution;B:blank solution spiked with standards;C:real sample;1. neochlorogenic acid;2. chlorogenic acid;3. cryptochlorogenic acid;4. puerarin;5. rutin;6. isoquercetin;7. quercetin;8. kaempferol-3-O-rutinoside;9. galuteolin.

### 3.1.2 标准曲线与定量下限、最低检测限

取“2.2”项下系列浓度混合对照品溶液 200  $\mu\text{L}$  (新绿原酸质量浓度分别为 0.37、0.74、1.49、2.98、5.95、11.91  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 绿原酸质量浓度分别为 0.81、1.62、3.24、6.48、12.95、25.91  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 隐绿原酸质量浓度分别为 0.79、1.58、3.16、6.31、12.63、25.26  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 芦丁质量浓度分别为 2.95、5.91、11.81、23.63、47.25、94.50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 异槲皮苷质量浓度分别为 0.39、0.78、1.56、3.13、6.26、12.51  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 槲皮苷质量浓度分别为 0.19、0.37、0.74、1.49、2.97、

5.94  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 山奈酚-3-O-芸香糖苷质量浓度分别为 0.77、1.54、3.09、6.17、12.35、24.70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 木犀草苷质量浓度分别为 0.77、1.55、3.10、6.19、12.38、24.77  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 按“2.4”、“2.1”项下操作。以待测物的峰面积与内标物峰面积之比 ( $A/A_i$ ) 为纵坐标 ( $Y$ ), 各物质浓度 ( $C$ ) 为横坐标 ( $X$ ) 进行直线回归, 权重系数为  $1/X$ , 获得回归方程。最低定量限 (LLOQ) 定义为  $S/N = 10$ , 最低检测限 (LLOD) 定义为  $S/N = 3$ 。各成分标准曲线方程依次为  $y = 0.9667x + 0.3747$  ( $r = 0.9991$ )、 $y = 0.7536x +$

0.440 1 ( $r=0.999\ 5$ )、 $y=1.238\ 9x+0.515\ 8$  ( $r=0.999\ 6$ )、 $y=3.607\ 8x+2.185\ 3$  ( $r=0.999\ 2$ )、 $y=4.424\ 4x+0.567\ 0$  ( $r=0.999\ 6$ )、 $y=8.327\ 9x+1.050\ 8$  ( $r=0.999\ 4$ )、 $y=4.389\ 9x+3.349\ 9$  ( $r=0.999\ 2$ )、 $y=1.829\ 5x+1.111\ 7$  ( $r=0.999\ 2$ )。各成分在其线性范围内线性关系良好 ( $r\geq 0.999$ )，LLOQ 分别为 0.37、0.81、0.79、2.95、0.39、0.19、0.77、0.77  $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 分别为 0.022、0.045、0.038、0.168、0.021、0.018、0.053、0.059  $\mu\text{g/mL}$ 。

### 3.1.3 精密度和准确度

按“3.1.2”项下方法，分别配制同一分析批的 8 种成分定量下限以及低、中、高浓度（新绿原酸 0.74、2.23、8.93  $\mu\text{g/mL}$ ；绿原酸 1.62、4.86、19.43  $\mu\text{g/mL}$ ；隐绿原酸 1.58、4.74、18.94  $\mu\text{g/mL}$ ；芦丁 5.91、17.72、70.88  $\mu\text{g/mL}$ ；异槲皮苷 0.78、2.35、9.38  $\mu\text{g/mL}$ ；槲皮苷 0.37、1.11、4.46  $\mu\text{g/mL}$ ；山奈酚-3-O-芸香糖苷 1.54、4.63、18.52  $\mu\text{g/mL}$ ；木犀草苷 1.55、4.64、18.57  $\mu\text{g/mL}$ ）混合质控 (QC) 样品，各浓度平行制备 5 份，按“2.4”、“2.1”项下操作，考察批内精密度和准确度；同法配制 3 个分析批的定量下限以及低、中、高质量浓度质控样品，各样品连续进样 3 天，各浓度平行测定 5 次，考察批间精密度和准确度。结果表明：批内精密度的 RSD 为 2.84% ~ 9.45%，准确度 (RE) 为 -3.82% ~ 7.56%；批间精密度的 RSD 为 9.35% ~ 10.22%，准确度 (RE) 为 -4.26% ~ 5.45%，符合生物样品的测定要求。

### 3.1.4 提取回收率

取“2.2”项下空白肠循环液 200  $\mu\text{L}$ ，置于 1.5 mL 离心管中，分别加入“3.1.2”项下方法配制的系列浓度混合对照品溶液适量，按“2.4”、“2.1”项下操作，得各成分峰面积 ( $A_{\text{提取}}$ )；另取空白肠循环液 200  $\mu\text{L}$ ，按“2.4”项下方法处理至氮气吹干，残渣加入相应质量浓度的系列混合标准品溶液，混匀，使最终质量浓度与前者一样，再按“2.1”项下进样，得各

成分峰面积 ( $A_{\text{未提取}}$ )；提取回收率 = ( $A_{\text{提取}}/A_{\text{未提取}}$ )  $\times$  100%。每个质量浓度平行 5 个样本。结果表明，8 种成分的提取回收率为 71.45% ~ 83.26% (RSD < 7%， $n=5$ )；内标的提取回收率为 80.22% ~ 85.12% (RSD < 8%， $n=5$ )。

### 3.1.5 基质效应

取“2.2”项下低、中、高浓度混合对照品溶液适量，37  $^{\circ}\text{C}$  氮气下吹干，加入空白肠循环液 200  $\mu\text{L}$  使溶解，按“2.4”、“2.1”项下操作，每个质量浓度进样 5 次，记录峰面积 ( $A_1$ )；另取对应质量浓度的混合对照品溶液适量，37  $^{\circ}\text{C}$  氮气下吹干，加入 50% 甲醇 200  $\mu\text{L}$  使溶解，每个质量浓度进样 5 次，记录峰面积 ( $A_2$ )；基质效应 =  $A_1/A_2 \times 100\%$ 。结果表明，各待测物的基质效应为 81.35% ~ 112.65% (RSD < 8%， $n=5$ )，内标的基质效应为 86.22% ~ 105.43% (RSD < 8%， $n=5$ )，基质效应不影响待测物的测定。

### 3.1.6 稳定性

按“3.1.2”项下方法配制各待测物低、中、高质量浓度混合对照品溶液，按“2.4”项下处理后，分别于 0、2、4、6、8、12 h (室温) 取样，按“2.1”项下进样，以各指标成分峰面积计算该样品的稳定性。结果表明，各成分的 RSD 值均小于 8.5% ( $n=6$ )，提示肠灌流液样品在 12 h 内稳定。

## 3.2 红禾麻提取物的肠吸收试验

### 3.2.1 红禾麻提取物的 PH 对肠吸收的影响

取 AA 模型大鼠与正常 SD 大鼠各 16 只，每组 4 只，选择 5.0 mg/mL 红禾麻提取物溶液作为肠灌流液，按“2.3.2”项下方法操作，考察 AA 模型与正常大鼠在不同 pH (5.0、6.0、6.8、7.4) 红禾麻提取物中各成分的 A 和  $K_a$ ，见表 2 ~ 3。结果表明，正常组与 AA 模型组中各成分的吸收均受 pH 的影响，pH 为 6.0 时各成分的 A 和  $K_a$  较大，故选择 pH6.0 的红禾麻提取物进行后续实验。

表 2 pH 值对正常大鼠 8 种成分肠吸收的影响 ( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )

Table 2 Effect of pH value on intestinal absorption of 8 components in normal rats ( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )

化合物 Compound	pH5.0		pH6.0		pH6.8		pH7.4	
	A (%)	$K_a$ ( $\text{min}^{-1}$ )	A (%)	$K_a$ ( $\text{min}^{-1}$ )	A (%)	$K_a$ ( $\text{min}^{-1}$ )	A (%)	$K_a$ ( $\text{min}^{-1}$ )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	30.2 $\pm$ 3.1	0.182 $\pm$ 0.200	35.9 $\pm$ 2.3	0.229 $\pm$ 0.025	24.3 $\pm$ 1.5	0.154 $\pm$ 0.025	28.3 $\pm$ 2.0	0.113 $\pm$ 0.014 *
绿原酸 Chlorogenic acid	27.2 $\pm$ 2.6 *	0.098 $\pm$ 0.098	30.4 $\pm$ 1.2	0.123 $\pm$ 0.012	33.6 $\pm$ 1.0	0.133 $\pm$ 0.014	18.6 $\pm$ 1.0 *	0.087 $\pm$ 0.013、
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	28.5 $\pm$ 2.0	0.252 $\pm$ 0.290	28.1 $\pm$ 3.5	0.346 $\pm$ 0.009	26.8 $\pm$ 2.1 *	0.126 $\pm$ 0.030	14.9 $\pm$ 2.5 *	0.065 $\pm$ 0.021

续表 2 (Continued Tab. 2)

化合物 Compound	pH5.0		pH6.0		pH6.8		pH7.4	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
芦丁 Rutin	29.6 ± 1.1	0.198 ± 0.625 *	34.9 ± 2.1	0.915 ± 0.022	22.9 ± 1.2	0.522 ± 0.003 *	23.0 ± 1.2	0.552 ± 0.009 *
异槲皮苷 Isoquercetin	39.4 ± 4.2	0.307 ± 0.257	43.9 ± 8.7	0.373 ± 0.043	36.1 ± 3.5	0.270 ± 0.016	28.5 ± 5.2 *	0.222 ± 0.016
槲皮苷 Quercetin	17.4 ± 1.1	0.251 ± 0.094 *	21.9 ± 3.1	0.113 ± 0.089	16.9 ± 2.8 *	0.095 ± 0.015	13.5 ± 3.0	0.080 ± 0.023 *
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoid	26.1 ± 2.6	0.313 ± 0.222	36.3 ± 2.2	0.316 ± 0.013	22.7 ± 2.0	0.126 ± 0.026 *	34.1 ± 2.1	0.065 ± 0.009
木犀草苷 Galuteolin	32.1 ± 3.2	0.254 ± 0.072 *	44.0 ± 3.3	0.327 ± 0.025	36.6 ± 2.0	0.043 ± 0.005 *	26.1 ± 2.1	0.026 ± 0.010

注:与 pH6.0 组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与正常组相同 pH 相比, <sup>a</sup>  $P < 0.05$ 。

Note: Compared with pH6.0, \*  $P < 0.05$ ; Compared with the normal group at the same pH, <sup>a</sup>  $P < 0.05$ .

表 3 pH 值对 AA 模型大鼠 8 种成分肠吸收的影响 ( $\bar{x} \pm SD, n = 4$ )Table 3 Effect of pH value on intestinal absorption of 8 components in AA model rats ( $\bar{x} \pm SD, n = 4$ )

化合物 Compound	pH5.0		pH6.0		pH6.8		pH7.4	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	35.1 ± 3.2	0.168 ± 0.031	35.6 ± 5.1	0.289 ± 0.015	27.9 ± 2.9 * <sup>a</sup>	0.082 ± 0.023	29.8 ± 2.0 *	0.114 ± 0.042 *
绿原酸 Chlorogenic acid	22.2 ± 2.6 *	0.426 ± 0.013 <sup>a</sup>	32.6 ± 3.1	0.509 ± 0.030 <sup>a</sup>	23.8 ± 2.1	0.425 ± 0.044	26.2 ± 1.6 *	0.423 ± 0.012
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	24.8 ± 3.6	0.313 ± 0.026	28.7 ± 3.2	0.354 ± 0.041	23.5 ± 1.0 * <sup>a</sup>	0.202 ± 0.012 * <sup>a</sup>	20.4 ± 2.5 <sup>a</sup>	0.302 ± 0.007 <sup>a</sup>
芦丁 Rutin	47.9 ± 4.5 * <sup>a</sup>	0.923 ± 0.011 * <sup>a</sup>	52.4 ± 2.5 <sup>a</sup>	1.549 ± 0.012 <sup>a</sup>	50.8 ± 3.5	0.915 ± 0.034	41.0 ± 2.7	0.903 ± 0.023 *
异槲皮苷 Isoquercetin	45.5 ± 2.8 *	0.349 ± 0.010	65.9 ± 6.3	0.479 ± 0.033	49.6 ± 3.5 <sup>a</sup>	0.307 ± 0.025 * <sup>a</sup>	46.1 ± 4.2 * <sup>a</sup>	0.327 ± 0.043
槲皮苷 Quercetin	16.8 ± 1.1 * <sup>a</sup>	0.121 ± 0.031	24.8 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.185 ± 0.025	20.1 ± 2.9	0.120 ± 0.016	17.2 ± 1.1 *	0.108 ± 0.015 *
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoid	32.8 ± 3.4	0.421 ± 0.043 *	37.3 ± 4.4	0.442 ± 0.055 <sup>a</sup>	25.0 ± 1.6 * <sup>a</sup>	0.415 ± 0.039	30.2 ± 3.9	0.414 ± 0.042 <sup>a</sup>
木犀草苷 Galuteolin	25.3 ± 2.3 *	0.352 ± 0.011	48.8 ± 5.2	0.425 ± 0.008	31.3 ± 3.1 *	0.385 ± 0.014 *	29.3 ± 2.6 *	0.324 ± 0.011

注:与 pH6.0 组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与正常组相同 pH 相比, <sup>a</sup>  $P < 0.05$ 。

Note: Compared with pH6.0, \*  $P < 0.05$ ; Compared with the normal group at the same pH, <sup>a</sup>  $P < 0.05$ .

### 3.2.2 红禾麻提取物的质量浓度对肠吸收的影响

考察质量浓度为 2.5、5.0、10.0 mg/mL (pH6.0) 的红禾麻提取物供试液,各取 50 mL 置于 37 °C 恒温水浴中,按“2.3.2”项下方法操作,进行大鼠在体循环肠灌注实验,考察供试液中 8 种成分的 A 和 Ka,见表 4 和 5。结果表明,在考察浓度范围内,病理及生理状态下的槲皮苷存在高浓度饱和现象,表明其体内吸收方式为主动转运,其余 7 个成分的 A 和 Ka 呈随着浓度的增加而增大的趋势,提示其余 7 个成分的吸收机制可能为被动扩散。

与正常组同一浓度相比,模型组中各成分的吸收趋势总体上优于正常组。AA 模型组中芦丁与槲皮苷在低、中浓度下的 A、Ka 值显著高于正常大鼠,

山奈酚-3-O-芸香糖苷在高浓度时的 A、Ka 显著高于正常大鼠,推测病理状态下,AA 模型大鼠的肠黏膜通透性增加,吸收增强。

### 3.2.3 红禾麻提取物在不同肠段的吸收特征

选择 5.0 mg/mL (pH6.0) 红禾麻提取物溶液作为肠灌注液,考察 AA 模型大鼠与正常大鼠在不同肠段(十二指肠、空肠、回肠、结肠)的吸收特征,见表 6 和 7。结果表明,不同状态下的绿原酸、隐绿原酸在十二指肠的吸收优于回肠、空肠和结肠。正常大鼠对其余各成分的总体吸收趋势为回肠 > 十二指肠 > 空肠 > 结肠,AA 模型大鼠对其余各成分的总体吸收趋势为十二指肠 > 回肠 > 空肠 > 结肠。与正常大鼠相比,AA 模型大鼠的主要吸收部位为十

表4 浓度对正常大鼠8种成分肠吸收的影响( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )Table 4 Effect of concentration on intestinal absorption of 8 components in normal rats( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )

化合物 Compound	低浓度 Concentration-L		中浓度 Concentration-M		高浓度 Concentration-H	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	20.8 ± 3.2 *	0.128 ± 0.005 *	35.9 ± 2.3	0.228 ± 0.025	37.3 ± 5.2	0.447 ± 0.005
绿原酸 Chlorogenic acid	14.1 ± 2.8	0.416 ± 0.025 *	30.4 ± 1.2	0.123 ± 0.012	36.5 ± 4.2	0.529 ± 0.012
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	23.6 ± 4.1 *	0.117 ± 0.005	28.1 ± 3.5 *	0.346 ± 0.009	33.1 ± 4.7	0.419 ± 0.026
芦丁 Rutin	31.4 ± 5.1	0.824 ± 0.046	34.9 ± 2.1	0.915 ± 0.022 *	59.5 ± 7.1	1.068 ± 0.004
异槲皮苷 Isoquercetin	37.3 ± 2.4	0.225 ± 0.009 *	63.9 ± 8.7 *	0.873 ± 0.043	72.8 ± 8.9	0.402 ± 0.022
槲皮苷 Quercetin	23.4 ± 1.0 *	0.151 ± 0.012 *	21.9 ± 3.1 *	0.113 ± 0.089	21.5 ± 3.1	0.102 ± 0.020
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	25.7 ± 3.3	0.219 ± 0.053 *	36.3 ± 2.2 *	0.315 ± 0.013 *	58.0 ± 5.1	0.475 ± 0.005
木犀草苷 Galuteolin	26.9 ± 2.1 *	0.129 ± 0.035	44.0 ± 3.3	0.327 ± 0.025	60.2 ± 4.1	0.664 ± 0.010

注:与高浓度组相比, \*  $P < 0.05$ ;与正常组相同浓度相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compared with high concentration, \*  $P < 0.05$ ; Compared with the normal group at the same concentration, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

表5 浓度对 AA 模型大鼠8种成分肠吸收的影响( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )Table 5 Effect of concentration on intestinal absorption of 8 components in AA model rats( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )

化合物 Compound	低浓度 Concentration-L		中浓度 Concentration-M		高浓度 Concentration-H	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	22.8 ± 2.6	0.155 ± 0.012	35.6 ± 5.1	0.289 ± 0.015	41.7 ± 5.6	0.523 ± 0.009
绿原酸 Chlorogenic acid	17.6 ± 1.1 * <sup>a</sup>	0.318 ± 0.039 *	32.6 ± 3.1	0.509 ± 0.030 * <sup>a</sup>	40.9 ± 3.3	0.779 ± 0.016 <sup>a</sup>
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	24.0 ± 1.4	0.119 ± 0.012 *	28.7 ± 3.2 *	0.354 ± 0.041 *	39.3 ± 2.2 <sup>a</sup>	0.431 ± 0.025
芦丁 Rutin	40.4 ± 4.3 * <sup>a</sup>	1.128 ± 0.055 <sup>a</sup>	52.4 ± 2.5 * <sup>a</sup>	1.549 ± 0.012 <sup>a</sup>	63.8 ± 1.6	2.115 ± 0.037
异槲皮苷 Isoquercetin	42.9 ± 4.3	0.338 ± 0.031 *	65.9 ± 6.3	0.479 ± 0.033	78.8 ± 8.6	0.512 ± 0.025
槲皮苷 Quercetin	26.8 ± 3.1 * <sup>a</sup>	0.138 ± 0.018 * <sup>a</sup>	24.8 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.185 ± 0.025 <sup>a</sup>	20.6 ± 5.1	0.124 ± 0.005 <sup>a</sup>
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	27.9 ± 2.1	0.326 ± 0.022	37.3 ± 4.4 *	0.442 ± 0.055 *	46.3 ± 3.5 <sup>a</sup>	0.563 ± 0.006 <sup>a</sup>
木犀草苷 Galuteolin	30.9 ± 1.0 <sup>a</sup>	0.113 ± 0.054	48.8 ± 5.2 <sup>a</sup>	0.425 ± 0.008	72.8 ± 9.0	0.672 ± 0.012

注:与高浓度组相比, \*  $P < 0.05$ ;与正常组相同浓度相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compared with high concentration, \*  $P < 0.05$ ; Compared with the normal group at the same concentration, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

二指肠,表明 AA 会使红禾麻提取物中各成分的吸收从最大吸收部位后移,从回肠不同程度地转移到十二指肠,提示病理状态可能会改变药物的主要吸收部位。

### 3.2.4 胆汁和 P-gp 对红禾麻提取物肠吸收的影响

取 AA 模型大鼠与正常 SD 大鼠各 12 只,每组 4

只,模型与正常大鼠均分为对照组(结扎总胆管,不加 P-gp 抑制剂)、不结扎组(不结扎总胆管,不加 P-gp 抑制剂);P-gp 抑制剂组(结扎总胆管,加 P-gp 抑制剂盐酸维拉帕米 108 μg/L)。选择 5.0 mg/mL (pH6.0)红禾麻提取物溶液作为肠灌流液,以全肠段为目标肠段,通过方差分析比较 A,考察胆汁及 P-

表6 肠段对正常大鼠8种成分肠吸收的影响( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )Table 6 Effect of intestinal segment on intestinal absorption of 8 components in normal rats( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )

化合物 Compound	十二指肠 Duodenum		空肠 Jejunum		回肠 Ileum		结肠 Colon	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	26.1 ± 2.2	0.054 ± 0.011	24.3 ± 3.6	0.052 ± 0.005	27.6 ± 2.6	0.072 ± 0.013	19.4 ± 3.1	0.042 ± 0.011
绿原酸 Chlorogenic acid	20.7 ± 5.4	0.044 ± 0.007	13.5 ± 3.4 <sup>a</sup>	0.037 ± 0.014 <sup>a</sup>	16.6 ± 1.6 <sup>a</sup>	0.041 ± 0.012	8.2 ± 1.0 <sup>a</sup>	0.026 ± 0.005
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	25.2 ± 5.5	0.066 ± 0.012	19.2 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.057 ± 0.005	20.1 ± 3.8 <sup>a</sup>	0.062 ± 0.009 <sup>a</sup>	17.8 ± 2.2	0.042 ± 0.003 <sup>a</sup>
芦丁 Rutin	28.7 ± 3.0	0.172 ± 0.020	22.1 ± 1.1 <sup>a</sup>	0.167 ± 0.026 <sup>a</sup>	32.9 ± 4.0	0.180 ± 0.005	18.8 ± 2.5 <sup>a</sup>	0.143 ± 0.010
异槲皮苷 Isoquercetin	40.9 ± 4.1	0.074 ± 0.009	38.3 ± 2.6	0.064 ± 0.010	45.4 ± 6.3 <sup>a</sup>	0.085 ± 0.002 <sup>a</sup>	26.1 ± 2.0	0.053 ± 0.005 <sup>a</sup>
槲皮苷 Quercetin	18.3 ± 2.2	0.036 ± 0.001	18.3 ± 1.2	0.035 ± 0.009 <sup>a</sup>	23.6 ± 3.2	0.042 ± 0.002	15.0 ± 1.6	0.026 ± 0.004 <sup>a</sup>
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	32.3 ± 3.6	0.013 ± 0.001	27.3 ± 4.9 <sup>a</sup>	0.013 ± 0.010	36.4 ± 5.0 <sup>a</sup>	0.015 ± 0.006 <sup>a</sup>	21.1 ± 2.6 <sup>a</sup>	0.010 ± 0.001
木犀草苷 Galuteolin	36.7 ± 4.6	0.020 ± 0.003	29.5 ± 2.1	0.016 ± 0.005	42.6 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.024 ± 0.008	25.2 ± 2.0 <sup>a</sup>	0.012 ± 0.006

注:与十二指肠组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与正常组相同肠段相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

Note:Compared with the duodenum, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;Compared with the normal group at the same intestine, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

表7 肠段对AA模型大鼠8种成分肠吸收的影响( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )Table 7 Effect of intestinal segment on intestinal absorption of 8 components in AA model rats( $\bar{x} \pm SD, n=4$ )

化合物 Compound	十二指肠 Duodenum		空肠 Jejunum		回肠 Ileum		结肠 Colon	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	30.1 ± 1.6	0.079 ± 0.006	25.2 ± 2.7 <sup>a</sup>	0.052 ± 0.015	28.5 ± 3.9 <sup>a</sup>	0.064 ± 0.014	21.5 ± 1.7	0.031 ± 0.004 <sup>a</sup>
绿原酸 Chlorogenic acid	26.7 ± 2.2	0.045 ± 0.013	20.0 ± 2.8 <sup>a</sup>	0.030 ± 0.009 <sup>a</sup>	24.3 ± 2.4 <sup>a</sup>	0.042 ± 0.013 <sup>a</sup>	10.8 ± 1.0	0.029 ± 0.009
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	27.4 ± 2.6	0.069 ± 0.010 <sup>a</sup>	20.9 ± 1.1	0.060 ± 0.002 <sup>a</sup>	25.7 ± 3.9 <sup>a</sup>	0.066 ± 0.005 <sup>a</sup>	15.5 ± 3.0 <sup>a</sup>	0.046 ± 0.013 <sup>a</sup>
芦丁 Rutin	48.9 ± 6.1	0.206 ± 0.026	30.1 ± 4.8 <sup>a</sup>	0.163 ± 0.013	39.4 ± 4.5 <sup>a</sup>	0.187 ± 0.026 <sup>a</sup>	28.3 ± 3.2	0.101 ± 0.007
异槲皮苷 Isoquercetin	48.4 ± 7.4	0.091 ± 0.020	38.3 ± 4.2	0.069 ± 0.006	43.9 ± 6.9	0.085 ± 0.007	26.1 ± 3.2	0.059 ± 0.005
槲皮苷 Quercetin	28.9 ± 2.8 <sup>a</sup>	0.062 ± 0.007 <sup>a</sup>	20.3 ± 2.0 <sup>a</sup>	0.035 ± 0.008 <sup>a</sup>	23.1 ± 1.6	0.043 ± 0.008 <sup>a</sup>	18.2 ± 2.3 <sup>a</sup>	0.031 ± 0.002 <sup>a</sup>
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	45.9 ± 3.7	0.025 ± 0.005	32.2 ± 3.2 <sup>a</sup>	0.014 ± 0.012	36.4 ± 3.2	0.015 ± 0.001	28.4 ± 1.0	0.012 ± 0.009
木犀草苷 Galuteolin	40.0 ± 2.9 <sup>a</sup>	0.031 ± 0.010	30.8 ± 2.6	0.022 ± 0.023	38.3 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.012 ± 0.002	21.5 ± 1.9	0.017 ± 0.005 <sup>a</sup>

注:与十二指肠组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与正常组相同肠段相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

Note:Compared with the duodenum, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;Compared with the normal group at the same intestine, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

gp对红苜麻提取物吸收的影响,见表8和9。

结果表明,与结扎胆总管后的对照组相比,胆汁对正常组中的绿原酸、芦丁、木犀草苷有显著抑制作用,对槲皮苷有显著促进作用;此外,胆汁对模型组中新绿原酸、芦丁有显著抑制作用,对异槲皮苷、槲皮苷有显著促进作用。故实验之前需进行胆管结扎,以排除胆汁对各成分的影响,保证实验数据可

靠。

与未加P-gp抑制剂的对照组相比,正常与AA模型组的肠吸收均受盐酸维拉帕米的影响。正常大鼠与AA模型大鼠中绿原酸的A和Ka值均有所减小,但对槲皮苷的吸收明显增加,推测槲皮苷可能是P-gp的底物。与正常组相比,AA模型组中各成分在肠道的吸收总体上增加。



表 8 胆汁和 P-gp 抑制剂对正常大鼠 8 种成分肠吸收的影响( $\bar{x} \pm SD, n = 4$ )Table 8 Effect of bile and p-gp inhibitor on intestinal absorption of 8 components in normal rats( $\bar{x} \pm SD, n = 4$ )

化合物 Compound	对照组 Control group		不结扎组 No ligation of bile duct group		P-gp 抑制剂组 P-gp inhibitor group	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	35.9 ± 2.3	0.229 ± 0.025	27.6 ± 1.5	0.117 ± 0.013	24.8 ± 1.8	0.085 ± 0.011
绿原酸 Chlorogenic acid	30.4 ± 1.2	0.123 ± 0.012	27.7 ± 2.3 *	0.083 ± 0.010 *	21.9 ± 2.0 *	0.106 ± 0.010 *
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	28.1 ± 3.5	0.346 ± 0.009	20.9 ± 1.0	0.253 ± 0.012	20.4 ± 2.5	0.246 ± 0.043
芦丁 Rutin	34.9 ± 2.1	0.915 ± 0.022	18.4 ± 1.7 *	0.067 ± 0.010	22.3 ± 3.2	0.841 ± 0.015
异槲皮苷 Isoquercetin	43.9 ± 8.7	0.373 ± 0.043	57.0 ± 5.9	0.512 ± 0.026 *	35.2 ± 4.0 *	0.311 ± 0.027
槲皮苷 Quercetin	21.9 ± 3.1	0.113 ± 0.089	45.6 ± 3.4 *	0.323 ± 0.064 *	48.6 ± 2.2 *	0.319 ± 0.022 *
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	36.3 ± 2.2	0.316 ± 0.013	32.3 ± 2.6	0.205 ± 0.009	27.4 ± 1.9	0.112 ± 0.007
木犀草苷 Galuteolin	44.0 ± 3.3	0.327 ± 0.025	37.8 ± 1.0 *	0.303 ± 0.013	28.2 ± 2.6	0.205 ± 0.014

注:与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与正常组相同项下相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

Note: Compared with the control, \*  $P < 0.05$ ; Compared with the normal group at the same item, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

表 9 胆汁和 P-gp 抑制剂对 AA 模型大鼠 8 种成分肠吸收的影响( $\bar{x} \pm SD, n = 4$ )Table 9 Effect of bile and p-gp inhibitor on intestinal absorption of 8 components in AA model rats( $\bar{x} \pm SD, n = 4$ )

化合物 Compound	对照组 Control group		不结扎组 No ligation of bile duct group		P-gp 抑制剂组 P-gp inhibitor group	
	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )	A (%)	Ka (min <sup>-1</sup> )
新绿原酸 Neochlorogenic acid	35.6 ± 5.1	0.289 ± 0.015	32.0 ± 3.5 * <sup>a</sup>	0.201 ± 0.006	22.0 ± 2.6	0.091 ± 0.022
绿原酸 Chlorogenic acid	32.6 ± 3.1	0.509 ± 0.030 <sup>a</sup>	28.5 ± 2.6	0.252 ± 0.015	27.2 ± 1.8 * <sup>a</sup>	0.324 ± 0.012 *
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	28.7 ± 3.2	0.354 ± 0.041	25.9 ± 2.0 <sup>a</sup>	0.322 ± 0.026 <sup>a</sup>	24.3 ± 3.5	0.325 ± 0.008
芦丁 Rutin	52.4 ± 2.5 <sup>a</sup>	1.549 ± 0.012 <sup>a</sup>	31.5 ± 3.2 *	0.082 ± 0.007 *	36.3 ± 2.9	0.926 ± 0.032 * <sup>a</sup>
异槲皮苷 Isoquercetin	65.9 ± 6.3	0.479 ± 0.033	69.4 ± 7.2 *	0.611 ± 0.046	42.9 ± 4.6	0.422 ± 0.053
槲皮苷 Quercetin	24.8 ± 3.6 <sup>a</sup>	0.185 ± 0.025	55.3 ± 5.0 *	0.318 ± 0.033 * <sup>a</sup>	59.4 ± 5.2 * <sup>a</sup>	0.428 ± 0.022 *
山奈-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside	37.3 ± 4.4	0.442 ± 0.055 <sup>a</sup>	35.6 ± 5.0	0.353 ± 0.013 <sup>a</sup>	31.6 ± 3.3	0.216 ± 0.043
木犀草苷 Galuteolin	48.8 ± 5.2	0.425 ± 0.008	48.5 ± 2.6	0.364 ± 0.020	34.8 ± 2.9 <sup>a</sup>	0.285 ± 0.024

注:与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与正常组相同项下相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

Note: Compared with the control, \*  $P < 0.05$ ; Compared with the normal group at the same item, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

#### 4 讨论

红苎麻提取物中 8 个成分在肠道的吸收试验表明,正常与病理状态下,槲皮苷不完全依赖浓度梯度转运,其在小肠的吸收方式可能为主动转运,其余 7 个成分的吸收速率与药物浓度呈良好的线性关系,

提示其吸收机制可能为被动扩散,各成分的吸收均受 pH、胆汁和 P-gp 的影响。除绿原酸和隐绿原酸外,正常大鼠对其余各成分的总体吸收趋势为回肠 > 十二指肠 > 空肠 > 结肠,AA 模型对其余各成分的总体吸收趋势为十二指肠 > 回肠 > 空肠 > 结肠。

与正常大鼠相比,AA 模型大鼠的主要吸收部位为十二指肠,各成分的吸收趋势优于正常大鼠,表明 RA 可能会使红禾麻提取物中某些成分从小肠中的最大吸收部位后移,推测病理状态可能会改变药物的主要吸收部位,猜测其原因可能为<sup>[16]</sup>炎症能够调节细胞膜上有关转运体的表达、细胞膜的通透性,从而可能使药物的药代动力学行为发生变化,但具体机制尚待探究。

因 AA 模型与人 RA 在发病机制、临床表现、病理、免疫等方面有诸多相似性,且 AA 模型易于操作,越来越被研究者所认可。在该实验中,造模大鼠的关节表现出明显的炎症反应,如短时间内不同程度的发红、发热、肿胀等,表明该模型建立成功,与文献中报道<sup>[17]</sup>一致。

在体循环灌注模型既保证了实验动物血液和淋巴液的供应,又提高了实验动物各肠段的生物活性,且该模型能较好的模拟人体体内环境,更接近生物体本身,因而能够真实地反映药物的吸收情况。但该方法也有一定的局限性<sup>[18]</sup>:(1)在探讨肠段对红禾麻提取物肠吸收的过程中,通过结扎各肠段来形成灌流通路,以等浓度的药物灌流液进行实验,但在实际情况中,药物口服后,依次经过十二指肠、空肠、回肠及结肠,到达各肠段的药物浓度往往不相等,使得实验结果发生偏倚;(2)在体循环实验中,灌注时间较长,可能对肠黏膜造成损伤,导致实验结果产生误差。

P-gp 能够与药物结合使药物外排出细胞外,从而影响药物的吸收,导致进入体内的浓度降低而影响药物发挥效应。盐酸维拉帕米既是 P-gp 底物,又是其外排的典型抑制剂,在小肠的吸收较完全,被广泛应用。本实验中,加入 P-gp 抑制剂维拉帕米后,不同状态下槲皮苷的 A 和 Ka 显著性增加,表明槲皮苷的吸收受肠道上皮细胞中 P-gp 外排的影响,可能是 P-gp 的底物,为其临床药物相互作用的分析提供了重要理论依据。

研究表明<sup>[19]</sup>,槲皮苷和异槲皮苷可以完整的分子形式透过单层 Caco-2 细胞而被肠道吸收,同时在细胞内和基底侧存在广泛的代谢转化,推测槲皮素糖苷之间可能具有相同的肠道吸收机制。本实验中,槲皮苷的吸收机制为主动转运,异槲皮苷的吸收机制为被动扩散,与文献结果矛盾,基于此,课题组后续将采用其他方法和模型(如 Caco-2 细胞、离体外翻肠囊法等)对本研究结论进行验证,进一步探讨

红禾麻提取物在肠道中的吸收特征。

## 参考文献

- 1 Chi LQ, Zhou B, Gao WY, et al. Research progress of drugs commonly used to anti-rheumatoid arthritis[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39: 2851-2858.
- 2 Guizhou Provincial Drug Administration. Guizhou provincial quality standards for traditional chinese medicinal materials and ethnic medicinal materials[S]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Press, 2003: 187.
- 3 Zhu Z, Ma L, Zhu HY, et al. Studies on the chemical constituents of *Laportea bulbifera*[J]. Chin Med Mater(中药材), 2011, 34: 223-225.
- 4 Wang SL, Liu JH, Guan HY, et al. Chemical constituents of *Laportea bulbifera*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2014, 26(1): 25-27.
- 5 Zhou SH, Chen YR, Xu WF, et al. Grey correlation degree analysis between flavonoids ingredient in guizhou miao medicine *Laportea bulbifera* and environmental factors[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 30-35.
- 6 Tang J, Wu D, Chen SY, et al. Identification of chemical compositions in *Laportea bulbifera* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(24): 67-72.
- 7 Su ZQ, Zhao ZY, Xie SN, et al. Study on analgesic, anti-inflammatory and immunosuppressive activities of *Laportea bulbifera* extract[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2009, 25: 559-560.
- 8 Han HY, Suo YR, Liu X, et al. Effects of analgesia, anti-inflammation and immunosuppression of acetic ether extract of chinese medicine honghuoma[J]. Glob Chin Med(环球中医药), 2018, 11: 651-655.
- 9 Gong ZP, Chen Y, Zhang RJ, et al. Advances on pharmacokinetics of traditional chinese medicine under disease states[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40: 169-173.
- 10 Han HY. Preliminary study on anti-inflammatory substance basis and *in vivo* metabolism of ethnic drug *Laportea bulbifera*[D]. Beijing: Beijing University of Traditional Chinese Medicine(北京中医药大学), 2018.
- 11 Wu P, Li M, Gong ZP, et al. Analysis of intestinal absorption characteristics of *Inula cappa* extract by *in situ* intestinal circulating perfusion model[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(2): 1-8.
- 12 Zhang PH, Liu J, Zou RK, et al. Platelet activation related to disorder of FAK/Calpain signal pathway in adjuvant arthritis

- rats[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志),2019,35:263-268.
- 13 Li PP, Jie GX, Song SS, et al. Characteristics and evaluation indexes of adjuvant arthritis model in rats[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志),2012,28:453-457.
- 14 Chen PC, Hou JY, Hu jie, et al. Intestinal absorption of four main components of *Cortex eucommiae* extract in rats[J]. J Chin Med Ind(中国医药工业杂志),2015,46:730-735.
- 15 Gong ZP, Li M, Hou JY, et al. Study on the metabolites of active parts of *Inula cappa* in the intestinal circulating perfusion fluid of rat[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2017,45:122-124.
- 16 Yuan XZ, Zou SQ, Wang XG, et al. Pharmacokinetic differences of total glucosides from *Paeoniae Radix Alba* in rats with adjuvant arthritis and normalrats[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2016,22(20):86-89.
- 17 Min J, He W, Ao MZ, et al. Study on anti-oxidation effect and cytokines O total saponins of *Panax japonicus* in collagen induced arthritis rats[J]. Pharmacol Clinic Chin Mater Med(中国药理与临床),2012,28(4):48-50.
- 18 Sun HY, Chen H, Mei CY, et al. Study on intestinal absorption characteristics of 5 active components in ethanol extract from *Bletilla striata*[J]. China Pharm(中国药房),2019,30:757-764.
- 19 Li SY, Li Z, Gao WN, et al. Role of glucose transporter 1 and glucose transporter 2 in transmembrane absorption of quercetin and isoquercitrin[J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志),2018,32:192-200.

---

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

广西壮族自治区药用植物园

昆明医科大学药学院

西南交通大学生命科学与工程学院

西南交通大学期刊社