

地黄寡糖的吸收动力学研究*

郑年新 阮金秀 张永祥 葛召恒 顾国明

内容提要 目的:研究地黄寡糖在小鼠及大鼠体内的吸收和吸收部位。方法:用高效液相色谱/柱后荧光衍生法测定小鼠口服和静脉注射水苏糖后的血药浓度;大鼠原位肠灌流模型研究水苏糖的吸收和吸收部位;肠抑菌实验观察水苏糖在肠道内的代谢。结果:口服吸收快但很少,生物利用度为 3.82%。在胃、十二指肠、空肠和回肠的吸收率分别为 6.03%、13.80%、8.33% 和 0.53%,在大肠内不吸收。正常组及卡那霉素抑菌组的小鼠灌服水苏糖 3h 后,两组肠内的水苏糖残存量分别为 8.6% 和 93.4%。结论:水苏糖口服吸收少,主要吸收部位在小肠上部,未吸收的水苏糖在肠内被细菌破坏。

关键词 地黄寡糖 水苏糖 吸收 肠内细菌

Pharmacokinetic Study on Absorption of Stachyose ZHENG Nianxin, RUAN Jinxiu, ZHANG Yongxiang, et al *Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing (100850)*

Objective: To study the intestinal absorption and absorption site of stachyose, one of the oligosaccharides extracted from *Rehmannia*, in mice and rats. **Methods:** Plasma concentration of stachyose was measured by high performance liquid chromatography (HPLC) with postcolumn fluorescence derivatization after administration of stachyose to mice by oral or intravenous injection. The absorption of stachyose in different sections of digestive tract was evaluated using the intestine loop in situ technique. The kanamycin treated mice were used to study the metabolism of stachyose in intestine. **Results:** Absorption of stachyose in intestine after oral administration was quick but low, the bioavailability being 3.82%. The absorption rate in stomach, duodenum, jejunum and ileum was 6.03%, 13.80%, 8.33% and 0.53% respectively, no absorption was tested in large intestine. The residual rate of stachyose in the intestine of normal mice and kanamycin treated mice was 8.6% and 93.4% respectively. **Conclusion:** The intestinal absorption rate of stachyose is low, the main absorption site is the upper portion of small intestine. The unabsorbed stachyose is metabolized by the intestinal microflora.

Key words *Rehmannia* oligosaccharides, stachyose, absorption, intestinal microflora

地黄寡糖由本所植化室从生地黄中提取,其中含有效成分为四糖 60%,三糖 20%,其余 20% 为双糖或单糖。药理实验证明,该混合物具有增强机体造血功能⁽¹⁾和调节免疫功能⁽²⁾等活性,其中主要有效成分为四聚糖水苏糖。曾有文献认为,水苏糖等一些寡糖在胃肠道不吸收而经肠道细菌代谢为 CO_2 、 H_2 、短链脂肪酸等⁽³⁾,因此,无人研究其药理活性。我所在研究地黄多糖的基础上,分离得到了地黄寡糖并证实了其良好的生物活性。但是地黄寡糖在胃肠道中是否吸收,如何吸收均属未知。本研究通过考察其吸收动力学的特点,为开发应用该活性成分提供依据。经药理实验证明水苏糖与地黄寡糖的生物活性无明显差异。因

此,本实验以水苏糖为研究对象。

材料与方法

1 动物 昆明雄性小鼠,体重 18~22g;Wistar 雄性大鼠,体重 300~340g,均由本院动物中心提供。

2 药品与试剂 水苏糖为 Sigma 公司产品,高碘酸钠为普通化学试剂,牛磺酸为生化试剂。

3 主要仪器 P1000 色谱泵(美国光谱物理),LC-5A 色谱泵,RF-530 荧光检测器,C-R3A 积分仪(日本岛津),DDB-300 多通道电子蠕动泵,WC/09-05 恒温水浴,95% O_2 -5% CO_2 混合气(北京氮普北分气体工业有限公司)。

4 实验方法

4.1 大鼠原位肠灌流 参照文献^(4,5)的方法,大鼠用 1% 戊巴比妥钠(0.5/100g, ip)麻醉,仰卧位固定,腹部作 U 形切口暴露腹部器官。先结扎幽门静

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39730480);国家教委留学回国人员科研启动基金资助项目

中国人民解放军军事医学科学院毒物药物研究所(北京 100850)

脉、腹腔动脉、肝动脉和左肾动脉,用 0.5mm×1mm 的塑料管从右肾动脉插管,管尖穿过腹主动脉进入上肠系膜动脉 5mm,作为灌流液入口(灌流液组成为: Krebs-Ringer NaHCO₃ 缓冲液,含 0.3% 牛血清白蛋白,0.5% 右旋糖酐 T-40, pH7.4),固定后立即开通灌流,流速 3.0ml/min。在门静脉上离肝脏约 1.2cm 处作一切口,用 1.2mm×2mm 的塑料管面向小肠插管并固定,切开隔膜,让流出物导管与门静脉形成一条直线,下腔静脉在肝和心脏间结扎,并将流速提高到 8.0ml/min。用加热灯泡维持标本温度在(36±2)℃。胃下方十二指肠和盲肠处分别用线结扎。用灌流液 50ml 对标本循环 15min 后,将水苏糖 10mg 注入十二指肠,分别于 0、5、10、15、20、60、90、120min 测定灌流液中的水苏糖浓度。

4.2 吸收动力学 小鼠灌胃前 12h 禁食,自由饮水。按 2g/kg 灌胃后于 0、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0h 采血,离心(3000r/min, 10min)分离的血浆样品供测定用。用于静脉注射小鼠自由进食和饮水。按 200mg/kg 尾静脉注射后于 0、5、10、15、30、60、120、240min 采血,分离血浆供测定用。

4.3 吸收部位实验 大鼠用 1% 戊巴比妥钠(0.5/100g, ip)麻醉,仰卧位固定,腹部切口,分别暴露胃、十二指肠、空肠、回肠和直肠。用 37℃ 的生理盐水(pH 2 用于胃、pH6.5 用于十二指肠和空肠、pH7.4 用于回肠和直肠)清洗内容物后在所需部位的两端插管,并用止血钳夹紧。将水苏糖(50mg/kg)注入胃或不同部位的肠腔内后,1h 后用生理盐水冲洗各部位,测定其在各部位的残留量,推算吸收率。

4.4 肠细菌代谢实验 小鼠随机分为正常组和卡那霉素处理组,每组 3 只。卡那霉素处理组为连续 3 天灌服卡那霉素 1g/kg,每日两次。第 4 天两组分别灌服水苏糖(50mg/kg),3h 后取全肠,匀浆后测定水苏糖的含量。

4.5 样品测定 参照文献方法^[6],取血浆 100μl 于离心管中,加 1mol/L 高氯酸 60μl,离心(10 000r/min, 2min)后取上清液,加入 1mol/L NaOH 40μl,100μl 用于色谱分析,其他样品可过滤后直接进样。

4.6 药代动力学参数的处理 血药浓度数据采用统计矩^[7]的方法处理得到如下参数:达峰时间(T_{max}),达峰浓度(C_{max}),生物半衰期($t_{1/2}$),平均滞留时间(MRT),曲线下面积(AUC),总清除率(CL_{tot}),表观分布容积(V_d)和吸收率(F)。AUC 根据梯形法计算。

结 果

1 水苏糖的吸收情况 见图 1。水苏糖在给药后 1h 内以一定的速度吸收,以后呈缓慢吸收趋势,2h 时吸收已达平衡,吸收率约为 10%。

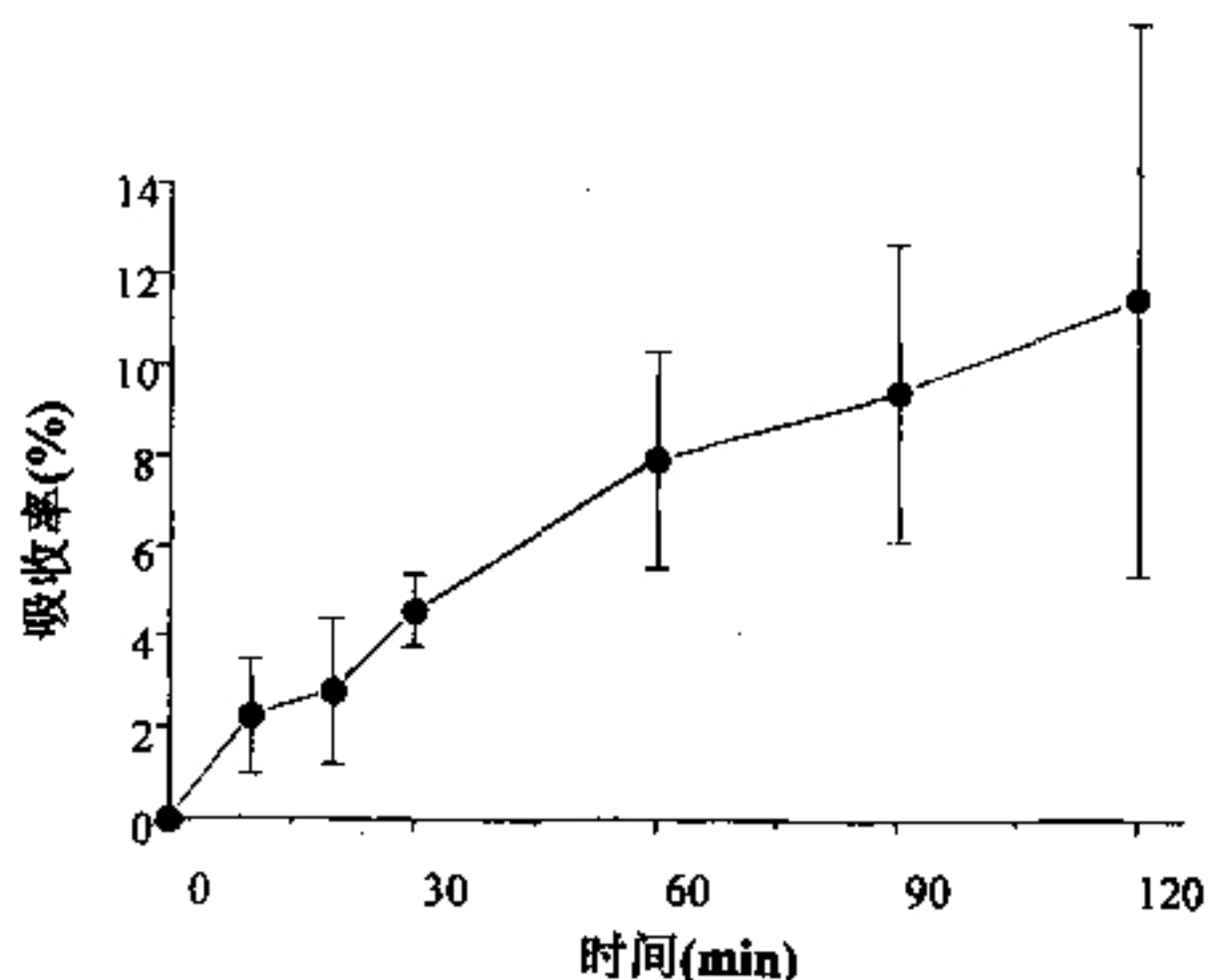


图 1 水苏糖注入十二指肠后,在肠灌流液中的动力学曲线($n=3$)

2 小鼠静脉注射和灌胃后的血药浓度随时间变化情况 见图 2,动力学参数见表 1。静脉注射后,水苏糖的动力学呈现出与一般药物相似的特点,即含快速和慢速两个消除相。口服灌胃后,水苏糖吸收较快,15min 在血中即可测到其浓度,但吸收不规则。由 AUC 求得的吸收率为 3.75%。水苏糖在体内消除较快,半衰期约为 40min。

3 水苏糖在胃肠道的吸收情况 见图 3。水苏糖在胃、十二指肠、空肠和回肠的吸收率分别为 6.03%、13.80%、8.33% 和 0.53%,在大肠内不吸收。

4 肠道菌对水苏糖吸收与代谢的影响 分别给

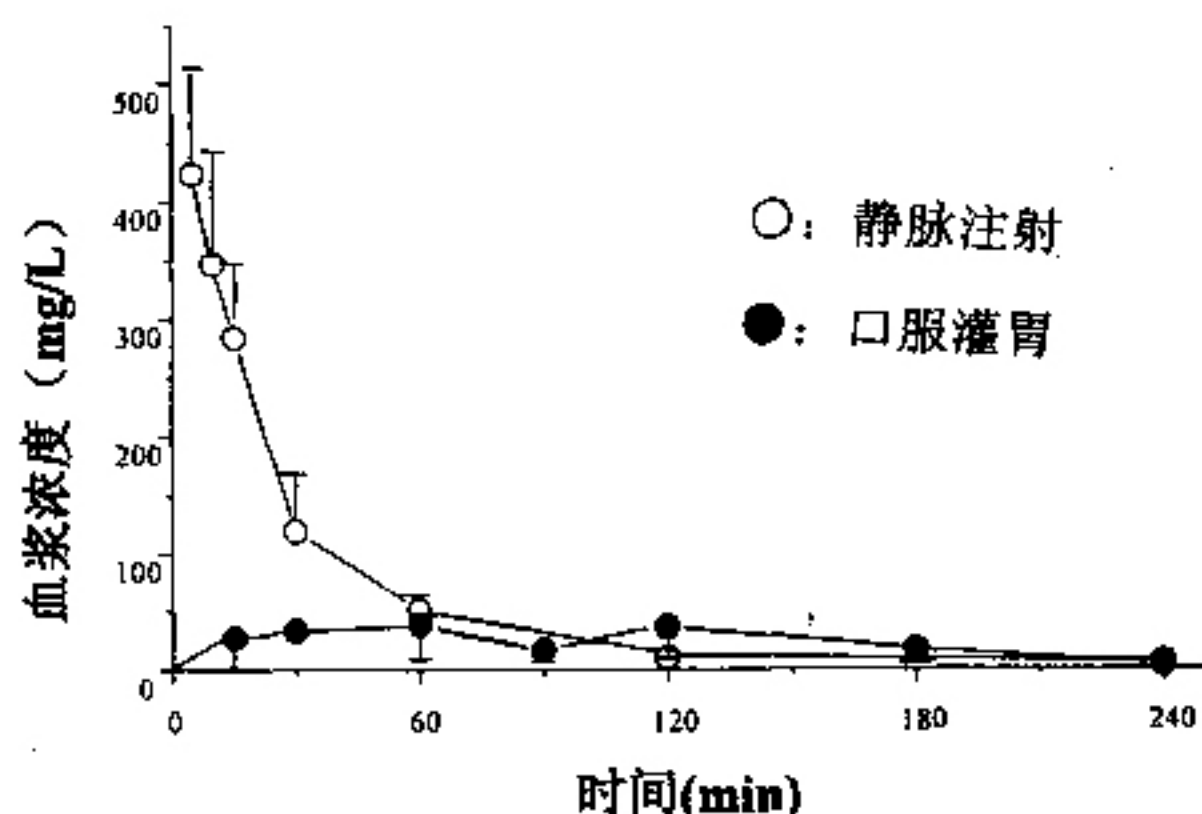


图 2 小鼠静脉注射和灌胃水苏糖后的血药浓度-时间曲线($n=4$)

正常组及卡那霉素处理组的小鼠灌服水苏糖的实验结果表明, 给药 3h 后, 正常组肠内的水苏糖残存量 8.6%, 而卡那霉素处理组肠内的水苏糖残存量却高达 93.4%, 见图 4, 提示水苏糖在肠内可大量被细菌代谢。

表 1 水苏糖在小鼠体内的动力学参数

	C_{max}	T_{max}	$t_{1/2}$	MRT	AUC*	V_d	CL_{int}	F
	(mg/L)	(h)	(h)	(h)	[mg/(L·h)]	(L/kg)	[L/(h·kg)]	(%)
口服 (2g/kg)	39.9	2.0	0.57	1.78	9.00	0.02	0.01	3.82
静脉注射 (200mg/kg)	—	—	0.62	0.62	240	0.52	0.82	—

注: * 换算成同等剂量的 AUC

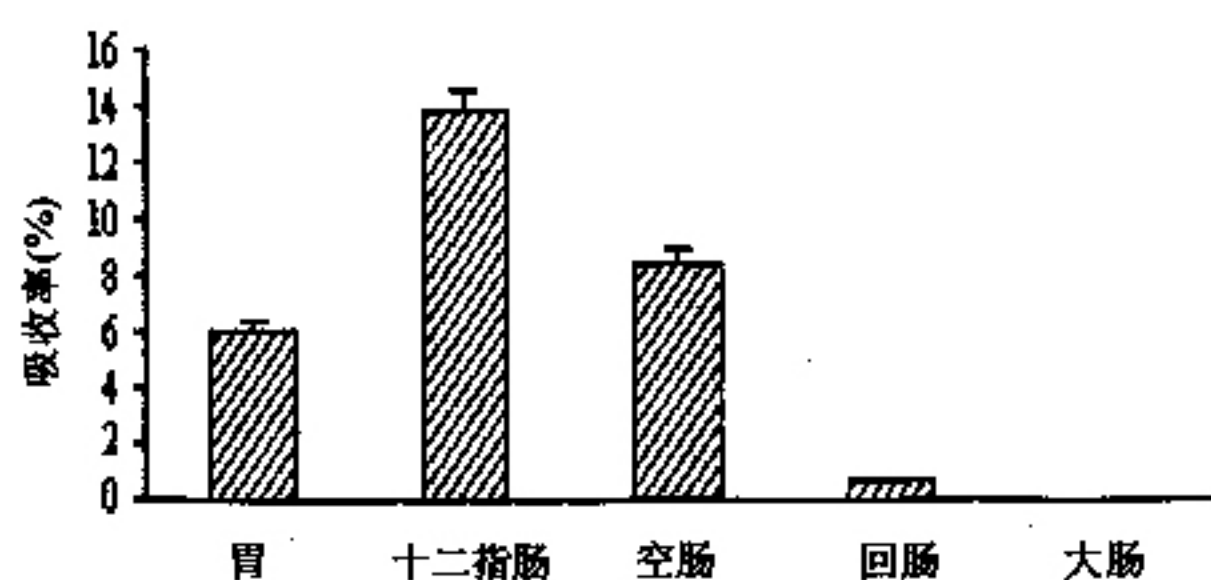


图 3 水苏糖在胃肠道的吸收情况 ($n=3$)

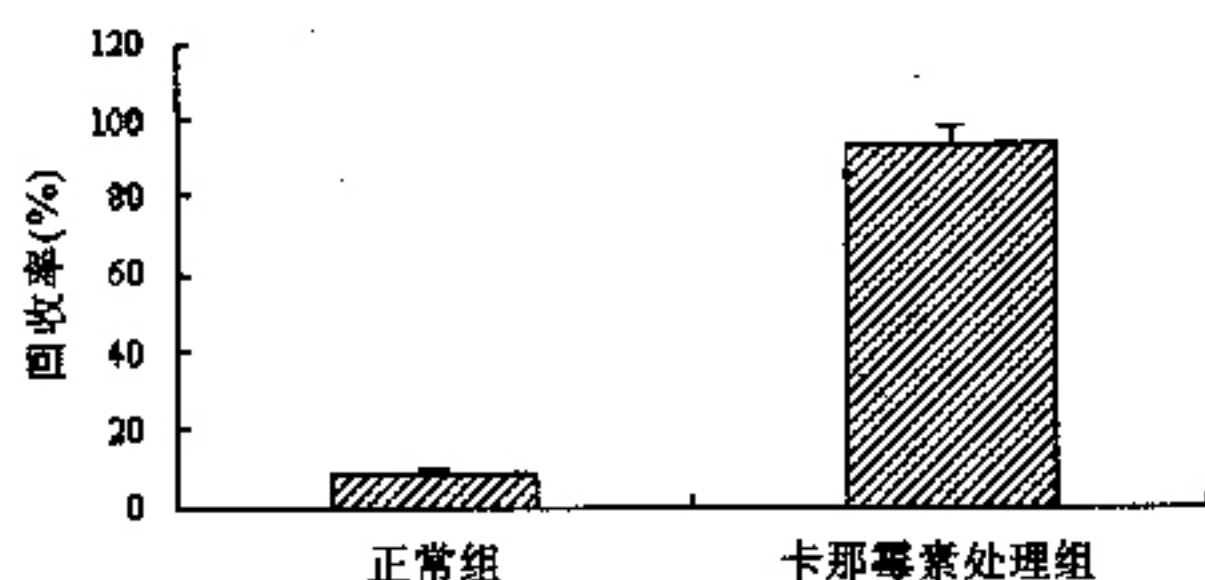


图 4 肠道菌对水苏糖的吸收与代谢影响 ($n=3$)

讨 论

原位大鼠肠灌流及整体动物实验证明, 水苏糖可经胃肠道吸收, 但吸收很少。这如何与其良好的生物活性相联系呢? 从目前的结果可以作如下推测: 是否在肠道局部刺激淋巴组织而发挥其免疫作用? 已有研究表明, 局部刺激淋巴组织能增加淋巴细胞的移动⁽⁸⁾, 促进 GM-CSF 和 IL-1 样活性物质的分泌^(9,10)。水苏糖在连续给药时可能通过不断刺激淋巴组织而产生免疫效果。以上推测有待药理实验证明。

肠道细菌对糖的吸收有一定影响, 这在 Ahr 等⁽¹¹⁾对阿卡波糖的研究中已得到证实。本实验也间接证明抑菌可提高水苏糖的吸收。Ahr 等的研究还表明, 连续给药可减少肠道细菌而增加阿卡波糖的吸收。因此可以推测, 在连续给药进行水苏糖的药理活性研究时, 其吸收会略有增加。

本研究中还发现水苏糖在胃肠道中可能会降解为三聚糖而被吸收, 有关这方面的研究工作正在进行。

参 考 文 献

1. 刘福君, 赵修南, 汤建芳, 等. 地黄寡糖对 SAMP8 小鼠造血祖细胞增殖的作用. 中国药理学与毒理学杂志 1998; 12(2): 127—129.
2. 张汝学, 顾国明, 张永祥, 等. 地黄寡糖对实验性糖尿病与高血糖大鼠糖代谢的调节作用. 中药药理与临床 1996; 12(1): 14—17.
3. Southgate DAT. Digestion and metabolism of sugars. Am J Clin Nutr 1995; 62(Suppl): 203s—211s.
4. Pang KS, Cherry WF, Ulm EH. Disposition of enalapril in the perfused rat intestine-liver preparation: absorption, metabolism and first-pass effect. J Pharmacol Exp Ther 1985; 233: 788—795.
5. 李 桦, 阮金秀, 杨进生. T_2 毒素在原位灌流大鼠小肠中的吸收和代谢动力学. 中国药理学与毒理学杂志 1993; 7(2): 100—103.
6. Yamauchi S, Nakai C, Nimura N, et al. Highly sensitive detection of non-reducing carbohydrates by liquid chromatography. Analyst 1993; 118: 769.
7. Yamaoka K, Nakagawa T, Ueno T. Statistical moments in pharmacokinetics. J Pharmacokinet Biopharm 1978; 6: 547.
8. Reynolds JD, Pabst R. The emigration of lymphocytes from peyer's patches in sheep. Eur J Immunol 1984; 14: 7—13.
9. Andreux JP, Renard MH, Andreux MH, et al. Modulation of murine hemopoiesis by repeated injections of a glycoprotein extract from klebsiella pneumoniae. Int J Immunopharm 1986; 8: 147—154.
10. Guenounou M, Perin S, Vacheron F, et al. Induction of circulating interleukin-1 (IL-1) secretion by murine macrophages and human monocytes after stimulation by RU 41740, a bacterial immunomodulator. Int J Immunopharm 1985; 7: 287—290.
11. Ahr HJ, Boberg M, Krause P, et al. Pharmacokinetics of acarbose. Arzneim-Forsch/Drug Res 1990; 39: 1254—1267.

(收稿: 1999-08-16 修回: 1999-11-06)