

盐酸小檗碱的溶解度及油水分配系数与大鼠在体肠吸收之间的相关性研究

黄嗣航, 龙晓英*, 袁飞, 陈莉, 罗明磊, 蔡宝玲, 刘昌顺(广东药学院中药学院, 广州 510006)

摘要: 目的 测定盐酸小檗碱(BH)的平衡溶解度和油水分配系数, 并研究 BH 的大鼠肠吸收机制。方法 采用摇瓶-紫外分光光度法测定平衡溶解度及油水分配系数; 分别采用酚红法和重量法校正灌流液体积, 研究 BH 3 个剂量组(50, 100, 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)在大鼠不同肠段的吸收情况。采用 HPLC 对灌流前后 BH、酚红含量进行测定。结果 BH 溶解度随 pH 值的增加而增加, 油水分配系数则相反; 酚红法较重量法能更好的减少实验误差, BH 在低、中、高 3 个浓度下,各肠段的有效渗透系数(P_{eff})有上升趋势, 且高浓度与低浓度相比, P_{eff} 均有统计学差异($P<0.05$); 高、中浓度时, BH 在空肠吸收较好; 低浓度时, BH 在十二指肠吸收较好。结论 在实验浓度范围内, 油水分配系数的预测结果与实际肠吸收结果基本一致; BH 在肠道上端比下端吸收更好, 延长药物在肠道上段的吸收时间, 可达到提高生物利用度的目的。

关键词: 盐酸小檗碱; 在体单向肠灌流法; 吸收; 溶解度; 油水分配系数

中图分类号: R927.14

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)03-0233-06

Correlativity Between Solubility O/W Partition Coefficients of Berbenine Hydrochloride and Intestinal Absorption in Rats in Situ

HUANG Sihang, LONG Xiaoying*, YUAN Fei, CHEN Li, LUO Minglei, CAI Baoling, LIU Changshun
(Chinese Herbal Medicine Collage, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the equilibrium solubility and the partition coefficient of Berbenine Hydrochloride (BH) and to evaluate its intestinal absorption characteristic. **METHODS** The solubility and partition coefficient of BH were measured by shaking flask-UV spectrophotometry. The absorptions of three concentrations(50, 100, 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) of BH in different intestinal segments were studied by phenol red assay and gravimetry. The concentrations of BH and phenol red were determined by HPLC. **RESULTS** The solubility of BH was increased with the pH increase of the buffer solution, and oil-water partition coefficient was decreased with increasing the pH of the buffer solution. Phenol red assay was better to reduce experimental error than gravimetry. There was positive correlation between the Permeability coefficient(P_{eff}) of each intestine and concentrations of BH, and it has obvious difference($P<0.05$) between the high concentration and low concentration. BH was well absorbed in jejunum at high and middle concentration, however, well absorption was observed in duodenum at low concentration. **CONCLUSION** In the experimental range, results of partition coefficients was in good accordance with predictive ones. BH was well absorbed at upper intestine than lower intestine over the concentration range. Extension of BH absorption time at upper intestine, could improve bioavailability.

KEY WORDS: berbenine chloride; in situ single pass perfusion; absorption; solubility; O/W partition coefficients

盐酸小檗碱(Berbenine Hydrochloride, BH)又称黄连素, 是从毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis*、三角叶黄连 *C. deltoidea*、或云连 *C. teeta* 的干燥根茎提取的一种异喹啉类生物碱。现代药理研究已经发现, BH 发挥药效具有双重特征, 即药物吸收入血, 主要发挥抗炎、抗心律失常、抗肿瘤、抗高血压及糖尿病等作用; 药物未吸收入血, 主要发

挥肠道抗菌作用以及影响肠道分泌来治疗腹泻^[1]。目前, 临床应用中 BH 以口服给药为主, 给药后 BH 的吸收程度是其能否发挥疗效的前提。

药物吸收的前提是在吸收部位呈溶解状态, 故水溶性是吸收的先决条件。若溶解速度大于吸收速度, 则吸收过程与剂型关系较小。若溶解速度小于吸收速度, 溶解则成为吸收过程的限速步

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30973953)

作者简介: 黄嗣航, 男, 硕士, 讲师 Tel: (020)39352169
教授, 硕导 Tel: (020)39352559 E-mail: longxy3156@163.com

E-mail: huangsihang@yahoo.com.cn

*通信作者: 龙晓英, 女, 博士, 教

骤^[2]。油水分配系数是模拟生物体内药物亲脂性或疏水性的物理参数,是指药物在油、水两相中分配平衡后,油相中的药物浓度与水相中的药物浓度之比。药物的溶解度及油水分配系数直接影响药物在体内的吸收,是预测药物口服吸收的重要物理参数。本研究旨在通过对BH的溶解度、油水分配系数及其在体肠吸收的研究,丰富药物的物理参数对吸收的影响,探索BH的吸收规律和特征,为BH的剂型开发提供生物药剂学依据。

1 材料

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪(LC-20A),SPD20A检测器,LC solution-lite 色谱工作站;HL-2B型数显恒流泵(予华仪器有限公司);岛津UV-2450型紫外可见分光光度计。

1.2 试药

BH 原料药(西安小草植物科技有限公司,纯度:97%,批号:xc090825);BH 对照品(中国药品生物制品检定所,纯度:97.9%,批号:110713-200910);乌拉坦(广州威佳科技有限公司,纯度:98%,批号:1700063-50G);酚红(天津福晨化学试剂公司,PR);Kreb-Ringer's 营养液(K-R液,每1000 mL含NaCl 7.80 g、KCl 0.35 g、NaH₂PO₄ 0.32 g、NaHCO₃ 1.37 g、MgCl₂ 0.02 g、葡萄糖 1.40 g、CaCl₂ 0.37 g);甲醇、磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD大鼠,SPF级,♀♂各半,体重(250±20)g,广东省医学实验动物中心提供,实验动物合格证号:SCXK(粤)2008-0002。

2 方法

2.1 BH在不同pH缓冲液中的平衡溶解度

量取2 mL不同pH缓冲液作为介质,加入过量的BH,60℃水浴加热2 h后,置37℃水浴恒温振荡器中,每天于同一时间100 r·min⁻¹振荡2 h后静止,连续20 d后静止72 h,0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,对应缓冲盐稀释,于350 nm处测定吸光度,计算BH平衡溶解度。

2.2 BH油/水分分配系数的测定

以正辛醇-水为模拟系统,采用摇瓶-紫外分光光度法测定表观油水分配系数^[3]。取2 mL BH储备液(1 mg·mL⁻¹),置具塞离心管中,加入2 mL对应pH缓冲液饱和的正辛醇,置37℃水浴恒温振

荡器中100 r·min⁻¹振荡72 h,静止24 h。分别取油、水层溶液1 mL,甲醇稀释适当倍数后,于350 nm处测定吸光度,计算BH在油、水两相中药物浓度,计算表观油水分配系数,平衡操作5次。

2.3 酚红与BH的含量测定方法

2.3.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(含0.2%磷酸、0.1%三乙胺)=45:55;柱温:30℃;流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:262 nm;进样量:20 μL。

2.3.2 空白干扰实验 取空白肠液进样测定,考察是否对BH、酚红的吸收有干扰。

2.3.3 标准曲线绘制 分别精密称取干燥至恒量的BH对照品和酚红适量,用空白肠液配成系列标准溶液。分别过0.45 μm滤膜,弃去初滤液,取续滤液20 μL进样,按“2.3.1”项下色谱条件,进样测定,记录色谱图,以质量浓度(C, μg·mL⁻¹)为横坐标,以BH和酚红峰面积(A)为纵坐标,分别绘制标准曲线。

2.3.4 回收率和精密度实验 用空白肠液配制低、中、高3个浓度的BH和酚红溶液,分别进样,测定峰面积,考察BH对照品和酚红的回收率。用中浓度的BH和酚红溶液,于1 d内重复测定5次,计算日内精密度。

2.3.5 稳定性实验 用空白肠液配制BH和酚红溶液,置于37℃水浴中,分别于0, 1, 2, 3, 4, 6 h取样,测定峰面积。

2.3.6 酚红在不同pH下对BH的干扰考察 采用HCl和NaOH溶液调节K-R液得到pH值分别为4.08, 6.05, 7.43, 8.08, 8.50, 9.01, 9.52, 10.03, 10.51, 11.00, 11.48的酚红K-R液,测定酚红干扰峰峰面积大小。

2.4 大鼠在体肠吸收实验

2.4.1 含药灌流液的配制 在K-R液中加入适量的酚红,使之成为含酚红20 μg·mL⁻¹的肠灌流液。分别称取适量的BH,先用少量乙醇超声溶解,再用肠灌流液稀释到500 mL,摇匀,使之成为不同浓度的含药肠灌流液。

2.4.2 大鼠在体肠吸收实验方法 取禁食过夜(自由饮水)的SD大鼠用质量浓度为20%乌拉坦溶液麻醉(6 mL·kg⁻¹),沿腹中线打开腹腔,小心分离出待考察的4个肠段,各取肠段约10 cm,于两端切口插管结扎,插管后将肠段小心放回腹腔,尽可能避免卷曲和扭结。用预热至37℃的生理盐水将

肠道内容物冲洗干净,再用空气将生理盐水排净。用等渗生理盐水浸渍的纱布覆盖于肠组织表面以保湿,于红外灯下使大鼠保持体温。实验时取不同浓度的供试液(预热至 37℃)200 mL,先以 1.0 mL·min⁻¹ 的流速灌流 10 min,再将流速调至 0.2 mL·min⁻¹,预平衡 30 min 后,进口处用已知重量的装有供试液的小瓶进行灌流,流速 0.2 mL·min⁻¹,每隔 30 min 在出口处用另一已知重量的小瓶收集 1 次(同时迅速更换下一个供试液小瓶和收集液小瓶),称量此时供试液小瓶和收集液小瓶的重量,同时按“2.3.1”项下色谱条件测定酚红和 BH 的浓度。实验后,测定生理盐水浸润肠段的长度,小心摊放避免拉伸。

2.4.3 肠灌流液中 BH 与酚红浓度测定 取大鼠在体肠灌流液样品,加 0.2% NaOH 溶液 1~2 滴,使其 pH 达到 8.0~8.2,0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液 20 μL,按“2.3.1”项下色谱条件检测,即得。

2.4.4 数据分析^[4] 在体大鼠单向肠灌流实验中所测得的出口处的 BH 的浓度用公式①、②校正。

$$\text{酚红法: } C_{\text{out(corrected)}} = \frac{C_{\text{out}} C_{\text{PR(in)}}}{C_{\text{PR(out)}}} \quad (1)$$

$$\text{重量法: } C_{\text{out(corrected)}} = \frac{C_{\text{out}} Q_{\text{out}}}{Q_{\text{in}}} \quad (2)$$

BH 的有效渗透系数 P_{eff} 用公式③计算,吸收速率参数 K_a 用公式④计算。

$$P_{\text{eff}} = \frac{Q \ln(C_{\text{in}}/C_{\text{out(corrected)}})}{2\pi r l} \quad (3)$$

$$K_a = \left(1 - \frac{C_{\text{out(corrected)}}}{C_{\text{in}}}\right) Q / \pi r^2 l \quad (4)$$

式中 $C_{\text{out(corrected)}}$ 和 C_{out} 分别为出口处经校正后的 BH 浓度和实际测得的 BH 浓度; C_{in} 为灌流液中 BH 的浓度; Q_{in} 、 Q_{out} 分别为肠道进出口灌流液的体积 (mL)(假定进出口灌流液密度为 1.0 g·mL⁻¹); $C_{\text{PR(in)}}$ 、 $C_{\text{PR(out)}}$ 分别为入口处和出口处酚红的浓度; Q 为肠道灌流液的流速 (0.2 mL·min⁻¹); l 和 r 分别为被灌流肠段的长度和内径(cm)。利用统计分析软件 SPSS 18.0 处理数据,当 $P < 0.05$ 时判定具有统计学差异,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2.4.5 大鼠在体不同肠段吸收实验 对大鼠肠段进行结扎:十二指肠段(自幽门 1 cm 处开始往下 10 cm 处两端各插管);空肠段(自幽门 15 cm 处往下 10 cm 处两端各插管);回肠段(离盲肠上行

20 cm 处开始往下 10 cm 处两端各插管);结肠段(从盲肠后端开始往下取 10 cm 处两端各插管),其他步骤按“2.4.2”项下方法,考察大鼠不同肠段对吸收的影响。

2.4.6 不同药物浓度对肠吸收影响的考察 分别选用 50, 100, 150 μg·mL⁻¹ 的 BH 供试液,进行十二指肠等 4 个肠段灌流,其他步骤按“2.4.2”项下方法,考察药物浓度对吸收的影响。

3 结果

3.1 BH 在不同 pH 缓冲液中的平衡溶解度与油水分配系数

BH 在不同 pH 缓冲液中平衡溶解度与油水分配系数数据见表 1 和图 1。BH 在 pH 1.2 和 2.5 的介质中溶解度明显小于 pH 5 以上的介质。而油水分配系数则相反,其数值是随 pH 的升高而降低。

表 1 不同 pH 下测得 BH 的溶解度及油水分配系数($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Solubility and O/W partition coefficient of BH in buffers($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

pH	油水分配系数	溶解度/mg·mL ⁻¹
1.2	0.2872±0.0750	0.240±0.0027
2.5	0.2012±0.0210	0.546±0.0047
5.0	0.0811±0.0081	4.220±0.048
纯水	0.0351±0.0045	4.309±0.062
5.8	0.0341±0.0024	4.362±0.046
6.8	0.0301±0.0012	4.485±0.039
7.2	0.0301±0.0013	4.608±0.037

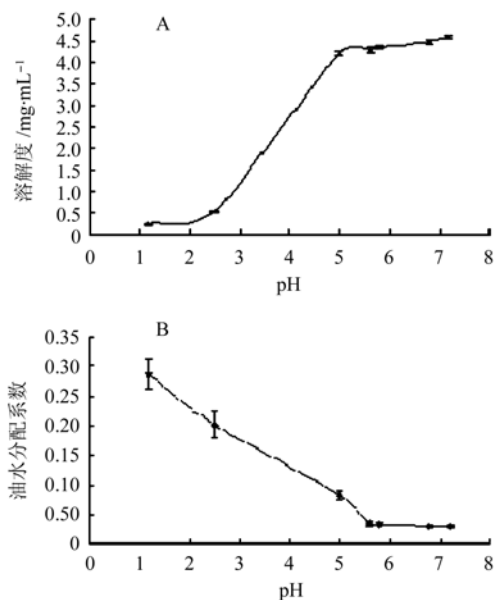


图 1 BH 在不同 pH 缓冲液中的平衡溶解度与油水分配系数 A—平衡溶解度; B—油水分配系数

Fig 1 Equilibrium solubility and O/W partition coefficient of BH in phosphate buffer

A—Equilibrium solubility of BH in phosphate buffer; B—O/W partition coefficient of BH in phosphate buffer

3.2 HPLC 分析方法的建立

空白干扰实验结果显示, 空白肠液在“2.3.1”项下色谱条件对药物的测定无干扰, 见图 2。BH 的线性回归方程: $A=71\ 888C+27\ 021$, $r=0.999\ 7$ 。结果表明, BH 在 $10\sim160\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度内与色谱峰面积呈良好的线性关系。酚红的回归方程: $A=32\ 183\ C-5\ 430.5$, $r=0.999\ 5$ 。结果表明, 酚红在 $5\sim80\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度内与色谱峰面积呈良好的线性关系。BH 低、中、高($50, 100, 150\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3 种浓度的回收率分别为 102.7%, 97.6%, 97.0%; 酚红低、中、高($10, 20, 40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3 种浓度的方法回收率分别为 103.2%, 100.6%, 102.7%, BH 和酚红的日内精密度 RSD 分别为 2.26%和 1.32%, 表明仪器的精密度良好, 结果见表 2。稳定性实验表明, 6 h 内 BH 和酚红在肠灌流液中基本稳定, RSD 分别为 3.67%和 4.15%。证明该方法适用于灌流液中 BH 与酚红浓度的测定。

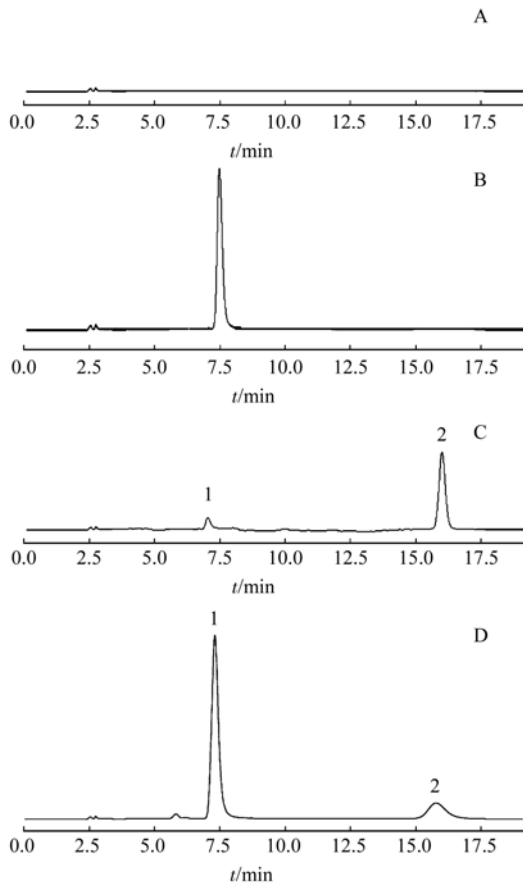


图 2 高效液相色谱图

A-空白肠循环液; B-BH 对照品; C-酚红样品; 峰 1 为干扰峰、峰 2 为检测峰; D-样品: 峰 1 为 BH、峰 2 为酚红

Fig 2 HPLC chromatograms

A-blank circumfusion solution; B-berbenine chloride; C-phenol red, peak 1: interference peak, peak 2: detecting peak; D-sample, peak 1: BH, peak 2: PR

表 2 BH 和酚红回收率测定结果

Tab 2 Results of recovery experiment

样品	加入量/ μg·mL ⁻¹	实测值/ μg·mL ⁻¹	回收率/ %	均值	RSD/ %
BH	49.99	51.69	103.40	102.70	2.95
		52.65	105.32		
		49.68	99.38		
		95.54	95.34		
	100.21	96.23	96.03	97.60	3.42
		101.65	101.44		
		148.49	98.97		
		150.04	93.50		
酚红	150.04	140.29	93.50	96.97	3.11
		147.68	98.43		
		10.42	102.06		
		10.21	102.35		
	20.08	10.45	102.35	103.23	1.73
		10.75	105.29		
		20.21	100.65		
		20.51	102.14		
40.03		19.88	99.00	100.60	1.56
		41.05	102.55		
		41.00	102.42		
		41.31	103.20		

3.3 酚红在不同 pH 下对 BH 的干扰

酚红在不同 pH 下干扰峰峰面积占检测峰峰面积的百分比见表 3。结果表明, 不同 pH 值对酚红干扰峰(7 min)峰面积有影响, 干扰峰面积最小的是 pH 8.08, 占检测峰(16 min)峰面积的 0.76%, 所以样品的检测条件固定在 pH 8.0~8.2 之间。

表 3 酚红在不同 pH 下对 BH 的干扰考察结果($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Interference of PR to BH in different buffers($n=3, \bar{x} \pm s$)

pH	干扰峰峰面积占检测峰峰面积的百分比/%
4.08	1.14±0.04
6.05	1.14±0.07
7.43	1.01±0.12
8.08	0.76±0.04
8.50	5.17±0.01
9.01	1.71±0.13
9.52	2.15±0.21
10.03	2.12±0.04
10.51	0.84±0.06
11.00	1.10±0.08
11.48	0.84±0.00

3.4 水分校正方法的比较

以 BH 中浓度数据为例, 重量法与酚红法比较, 结果经统计, 重量法方差不齐, 样本均数间的比较无统计学差异, 各组数据标准差较大。酚红法, 则反之。故本实验使用酚红法校正水分的影响。结果见表 4。

3.5 BH 在不同的浓度和肠段中吸收参数

50, 100, 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 BH 在不同肠段的吸收参数见表 5。本研究为多样本均数的两两比较, 各处理组间采用 LSD 检验分析各个肠段及不同浓度之间的差异性。其结果表明, BH 的质量浓度在

50~150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内, 随着浓度的增加, 其吸收有上升的趋势, 在高浓度无饱和现象, 低浓度与高浓度比较, K_a 和 P_{eff} 有统计学差异($P<0.05$), 表明 BH 在小肠内吸收无浓度饱和现象, BH 可能以被动扩散的机制吸收进入体循环。另外, 同一浓度下进行十二指肠、空肠、回肠、结肠灌流时发现, 高、中浓度时, 空肠与其他 3 个肠段的 P_{eff} 、 K_a 之间存在统计学差异($P<0.05$), 说明 BH 在空肠吸收较好; 低浓度时, BH 在十二指肠吸收较好, P_{eff} 、 K_a 之间存在显著性差异($P<0.05$)。总的来说, BH 的吸收部位在小肠上端。

表 4 酚红法与重量法测得 K_a 与 P_{eff} 值的比较($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Comparison of K_a and P_{eff} by phenol red assay and gravimetry($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

肠 段	重量法		酚红法	
	$K_a\times 10^{-2}/\text{min}^{-1}$	$P_{\text{eff}}\times 10^{-3}/\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	$K_a\times 10^{-2}/\text{min}^{-1}$	$P_{\text{eff}}\times 10^{-3}/\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$
十二指肠	1.66±0.99	2.16±1.33	0.22±0.13	0.26±0.16
空肠	5.56±3.24 ¹⁾	8.72±4.02	5.00±0.96 ¹⁾	7.51±1.84 ¹⁾
回肠	2.45±1.29	3.62±1.00	2.11±0.54	3.05±0.86
结肠	2.94±1.17	5.64±2.56	3.26±1.90	6.30±2.04

注: 与结肠比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with colon, ¹⁾ $P<0.05$

表 5 BH 3 个浓度在不同肠段的吸收参数($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 5 Absorption parameters of BH in different intestinal segments studied with different concentrations($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

浓 度	参 数	十二指肠	空肠	回肠	结肠
低浓度(50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$K_a\times 10^{-2}/\text{min}^{-1}$	1.84±0.58 ¹⁾	0.80±0.37 ¹⁾	0.94±0.20 ¹⁾	0.21±0.42
	$P_{\text{eff}}\times 10^{-3}/\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	2.30±0.75 ¹⁾	0.84±0.40 ¹⁾	1.08±0.24 ¹⁾	0.87±0.80
中浓度 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$K_a\times 10^{-2}/\text{min}^{-1}$	0.01±0.04	2.89±0.26 ¹⁾²⁾	0.68±0.10	0.69±0.20
	$P_{\text{eff}}\times 10^{-3}/\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	0.01±0.05	3.02±0.30 ¹⁾²⁾	0.78±0.11	1.14±0.34
高浓度(150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	$K_a\times 10^{-2}/\text{min}^{-1}$	0.22±0.13 ²⁾	5.00±0.96 ¹⁾²⁾	2.11±0.54 ²⁾	3.26±1.90 ²⁾
	$P_{\text{eff}}\times 10^{-3}/\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	0.26±0.16 ²⁾	7.51±1.84 ²⁾	3.05±0.86 ²⁾	6.30±2.04 ²⁾

注: 与结肠比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与低浓度比较, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with colon, ¹⁾ $P<0.05$; compared with low concentration, ²⁾ $P<0.05$

4 讨论

小肠吸收的过程中, 不仅吸收药物也吸收水分, 使供试液的体积减小, 故不能用直接计算药物浓度的方法来计算剩余药量。目前常用校正水分的方法主要有两种: 一种是重量法, 一种是酚红法。两种方法各有优缺点, 其中重量法的优点是不需加入“标示物”(酚红), 故不需测定酚红浓度^[5], 也不需担心酚红干扰药物的测定。缺点是其假设前提是进出口灌流液的密度相等, 实际上由于肠道的分泌以及药物被吸收会导致密度不等,

满足不了假设前提, 会引起较大结果误差; 另外, 实验过程中若出现管道堵塞或部分堵塞(可能由肠道内容物引起)则同样会引起进出口灌流液的体积变化(即此时测得的灌流液体积改变并不完全由水分被吸收所引起), 也会引入误差; 酚红法的优点在于酚红作为“标示物”方法成熟; 缺点是较之重量法, 步骤繁琐, 有时会对药物的测定造成干扰。此外, 酚红法的假设前提是酚红在肠道不吸收。目前, 也有文献报道酚红在肠道也有一定吸收^[6]。通过实验结果比较, 本实验最后采用酚红法

来校正水分。此外, 本实验通过较低的灌流速度($0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$)和较短的灌流时间, 减小了灌流对肠壁的损伤, 避免或减少了酚红被吸收, 使酚红可以很好地起到标示体积的作用。

目前, 采用酚红法的肠吸收实验中, 对于酚红的含量测定大部分采用可见分光光度法单独测定。可见分光光度法操作繁琐, 本实验在预实验的基础上, 采用HPLC同时测定BH和酚红的含量, 简单方便。在预实验中, 作者发现酚红在 262 nm 波长下有3个色谱峰, 其保留时间分别为7, 16, 22 min。其中16 min色谱峰峰面积最大、峰形较好, 可作为检测峰, 而7 min色谱峰与BH的保留时间(7.5 min)非常接近, 对BH的含量测定造成干扰, 同时发现该干扰峰的大小与pH值有密切关系, 通过实验证实, pH在8.08干扰峰最小, 仅为检测峰面积的0.76%。同时, 灌流液从肠道流出, 肠道分泌物会改变灌流液的pH值, 为使所有样品能在同一pH值下测定, 本实验以0.2% NaOH调节样品pH在8.0~8.2之间, 然后测定BH量。

从实验结果来看, 高、中浓度时, BH在空肠吸收较好; 低浓度时, BH在十二指肠吸收较好。似乎低浓度与高、中浓度最佳吸收部位不一致。原因可能是大鼠的十二指肠较短(约 10 cm), 十二指肠后紧接的空肠较长(约 $70\sim 100\text{ cm}$)^[7]。实验中分段是按: 十二指肠段自幽门 1 cm 处开始往下 10 cm 处两端各插管; 空肠段自幽门 15 cm 处往下 10 cm 处两端各插管。在不破坏肠系膜及血管情况下, 加之肠道弯曲和纠结, 实际操作时可能有一定误差, 即十二指肠段实际可能包括十二指肠和部分空肠。故认为: BH的最佳吸收部位在小肠上端。此结果与文献[8]报道的BH在血浆中药动学结果基本吻合。

影响药物胃肠道吸收的因素众多, 但药物溶解于胃肠液及胃肠黏膜是药物吸收的首要前提。因此, 本实验测定了BH的溶解度和油水分配系数(与胃肠黏膜渗透性密切相关), 期望对BH的胃肠道吸收有初步的判断, 辅助分析BH肠吸收情况。实验结果表明, BH的溶解度和油水分配系数在胃肠道pH范围均较低, 而且, 低pH的酸性环境的

溶解度低于中性、碱性介质, 而油水分配系数则相反, 这可能对BH的胃肠道吸收具有一定影响。由实验结果可见, BH介乎于吸收差和吸收完全之间。因本实验BH实验浓度($50\sim 150\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)远低于BH的饱和浓度。因此, 溶解度对肠吸收结果影响不大, 而油水分配系数则有一定影响。因为BH的logP在不同pH缓冲液中均 <0 , 一般认为, logP在2~3之间, 药物较容易在肠道中被吸收, 当logP <2 时则不易被吸收^[9]。油水分配系数的预测结果与实际肠吸收结果基本一致。而BH的油水分配系数受pH影响, 胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠中pH逐渐降低, 可能导致BH分子型逐渐减少, logP随之逐渐降低, 理论上BH应该在小肠上端有较好的吸收, 而实验结果也与理论推测相吻合。因此, 延长药物在肠道上段的吸收时间, 可达到提高生物利用度的目的。

REFERENCES

- [1] ZHANG Y G, WANG X, LIU L, et al. The anti-diarrhea mechanisms of berberine in diarrhea disease [J]. Shaanxi Med J(陕西医学杂志), 2010, 39(1): 6-8.
- [2] LIANG W Q. Biopharmaceutics & Pharmacokinetics(生物药剂学与药物动力学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 25-26.
- [3] LU X X, HE L, CHEN L, et al. Determination of equilibrium solubility and oil-water partition coefficient of scutellarin [J]. Acad J Guangdong Coll Pharm(广东药学院学报), 2011, 27(1): 1-4.
- [4] DU Q, DI L Q, SHAN J J, et al. Intestinal absorption of daphnetin by rats single pass perfusion *in situ* [J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2009, 44(8): 922-926.
- [5] NIE S F, PAN W S, YANG X G, et al. Evaluation of gravimetry in the rat single-pass intestinal perfusion technique [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2005, 14(10): 1176-1179.
- [6] HU Y Q, ZHENG L Y, QIAN C Q, et al. Absorption of phenol red from rat intestine [J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报), 1996, 27(6): 355-359.
- [7] YANG A F, WANG P. The Anatomy and Histology of Rat(大鼠的解剖和组织) [M]. Beijing: Science Press, 1985: 72-73.
- [8] WAN L L, ZHANG Z Q, LIU W J, et al. Pharmacokinetic study on berberine in the extract of rhizoma coptidis-radix Aucklandiae drug-pair in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, (6): 439-442.
- [9] FAGERHOLM M, JOHANSSON M, LENNERNAS H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum [J]. Pharm Res, 1996, 13(9): 1336-1342.

收稿日期: 2011-07-20