

猴头菌多糖对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道短链脂肪酸含量的影响[△]

杨永刚*, 王丹丹, 张艳秋, 王明星[#](长春中医药大学附属医院, 长春 130021)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2763-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.06

摘要 目的:探讨猴头菌多糖对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道内容物中短链脂肪酸(SCFAs)含量的影响。方法:取SD大鼠40只,随机分为空白组、模型组和猴头菌多糖低、高剂量组(0.5、1.0 g/kg),每组10只。除空白组外,其余组大鼠采用乙酸灌肠建立溃疡性结肠炎模型。造模后次日,猴头菌多糖各剂量组大鼠灌胃给予相应药液,空白组和模型组大鼠灌胃相应体积的水,连续给药10 d。取大鼠结肠组织,采用苏木精-伊红染色法观察其结肠组织病理学变化;肉眼观察大鼠结肠病变情况并进行溃疡评分,以评价疗效。采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用法检测大鼠肠道内容物中乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸等6种SCFAs的含量。结果:与空白组比较,模型组大鼠结肠黏膜上皮组织炎症病变明显;结肠黏膜溃疡评分均显著升高($P<0.01$);结肠内容物中除丙酸外的5种SCFAs含量以及SCFAs总量均显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,猴头菌多糖各剂量组大鼠结肠组织病理学损伤程度明显减轻;结肠黏膜溃疡评分均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);结肠内容物中除丙酸外的5种SCFAs含量以及SCFAs总量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:猴头菌多糖能有效改善溃疡性结肠炎模型大鼠的肠黏膜病变情况;其对大鼠肠道中SCFAs(尤其是乙酸、丁酸)含量的调节作用可能是其治疗溃疡性结肠炎的重要机制。

关键词 猴头菌多糖;溃疡性结肠炎;短链脂肪酸;机制;大鼠

Effects of *Hericum erinaceus* Polysaccharide on the Content of Short-chain Fatty Acids in the Intestine of Ulcerative Colitis Model Rats

YANG Yonggang, WANG Dandan, ZHANG Yanqiu, WANG Mingxing (The Affiliated Hospital of Changchun University of TCM, Changchun 130021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of *Hericum erinaceus* polysaccharide on the content of short-chain fatty acids (SCFAs) in the intestine of ulcerative colitis model rats. METHODS: A total of 40 SD rats were randomly divided into blank group, model group and *H. erinaceus* polysaccharide low-dose and high-dose groups (0.5, 1.0 g/kg), with 10 rats in each group. Except for blank group, other groups were given acetic acid enema to induce ulcerative colitis model. The next day after modeling, *H. erinaceus* polysaccharide groups were given relevant medicine solution intragastrically; blank group and model group were given relevant volume of water intragastrically, for 10 consecutive days. Colon tissue was collected, and pathological changes of colon tissue were observed by HE staining. The pathological changes of colon in rats were observed with naked eyes and scored so as to evaluate the therapeutic efficacy. The contents of 6 kinds of SCFAs (acetic acid, propionic acid, butyric acid, isobutyric acid, pentanoic acid and isovaleric acid) in intestine of rats were determined by GC-MS. RESULTS: Compared with blank group, inflammatory lesions of colonic mucosal epithelium in model group rats were obvious; colonic mucosal ulcer score increased significantly ($P<0.01$); the contents of 5 kinds of SCFAs and the total amount of SCFAs in colon except for propionic acid were decreased significantly ($P<0.01$). Compared with model group, the degree of colonic histopathological damage in *H. erinaceus* polysaccharide groups was significantly reduced; colonic mucosal ulcer scores were significantly reduced ($P<0.05$ or $P<0.01$); the contents of 5 kinds of SCFAs and the total amount of SCFAs in colon except for propionic acid were increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: *H. erinaceus* polysaccharide can effectively improve the pathological condition of ulcerative colitis model rats; its regulation of intestinal SCFAs (especially acetic acid and butyric acid) may be an important mechanism of its anti-ulcerative colitis.

KEYWORDS *Hericum erinaceus* polysaccharides; Ulcerative colitis; Short-chain fatty acid; Mechanism; Rat

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81603276);吉林省中医药科技项目(No.2017219、2017214)

* 助理研究员,博士。研究方向:中医药活性机制、临床用药管理。电话:0431-86172010。E-mail:8231697@qq.com

[#] 通信作者:副研究员,博士。研究方向:中药大分子结构及活性。电话:0431-86177630。E-mail:cc_wmx@163.com

猴头菌(*Hericum erinaceus*)又称猴头、猴头菇,是药食同源的名贵菌类,在胃炎、胃溃疡、肠炎等消化系统疾病治疗方面显示了独特的药用价值^[1]。猴头菌可以作为替代疗法的一味重要的药物用于治疗或预防溃疡性结肠炎,在世界范围内越来越受到研究者的关注^[2]。临

床试验表明,猴头菌多糖及其制剂在治疗溃疡性结肠炎中具有显著效果^[3];已有药理学研究也显示,猴头菌多糖可能通过调节免疫、抗氧化活性、抗炎等不同机制发挥其治疗溃疡性结肠炎的作用^[4]。然而,对猴头菌多糖的确切活性成分及作用机制尚缺乏深入的研究,一定程度限制了其临床应用。

本课题组前期制备了猴头菌多糖,并通过动物模型及细胞模型实验证实该多糖具有明显的抗溃疡性结肠炎活性^[5]。中药多糖属于大分子化合物,一般情况下不能经肠黏膜吸收入血,故其药理作用的发挥很可能与调节肠道内细菌种群代谢及其代谢产物有关^[6]。肠道菌群中某些特定细菌可将多糖降解为短链脂肪酸(SCFAs)这一最终代谢产物形式,主要包括乙酸、丙酸、丁酸等^[7],这些 SCFAs 被吸收进入机体后可调节宿主的生理功能(如乙酸、丁酸等在维持上皮屏障功能、调节上皮细胞增殖、调节免疫应答、预防结肠直肠癌等方面发挥了重要作用^[8])。然而,猴头菌多糖抗溃疡性结肠炎的活性作用机制是否与其调节肠道 SCFAs 含量有关尚未见相关研究报道。基于此,本研究通过乙酸灌肠诱导建立溃疡性结肠炎大鼠模型,考察猴头菌多糖的抗炎活性;同时,建立大鼠肠道内容物中 SCFAs 的含量测定方法,以探讨猴头菌多糖治疗溃疡性结肠炎与其影响肠道内 SCFAs 含量的相关性,为阐明猴头菌多糖是否通过调节肠道菌群代谢物 SCFAs 的含量来发挥抗溃疡性结肠炎的作用机制提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

HT GC-TOFMS 型气相色谱-飞行时间质谱联用系统(美国 Pegasus HT 公司);TG18G 型台式高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司);BT 125D 型电子天平(德国 Sartorius 仪器有限公司);PY-45 型恒温振荡器(中国智城仪器公司);Milli-Q 型超纯水机(法国 Millipore 公司);CX31 型显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 药品与试剂

猴头菌菌丝提取物(山西康欣药业有限公司,批号:2018001);乙酸标准品(批号:71251,纯度:>99.5%)、丙酸标准品(批号:402907,纯度:>99.5%)、丁酸标准品(批号:19215,纯度:>99.5%)、异丁酸标准品(批号:58360,纯度:>99.5%)、戊酸标准品(批号:75054,纯度:>99.5%)、异戊酸标准品(批号:78651,纯度:>99.5%)、2,4-二硝基苯胍盐酸盐溶液(衍生化试剂,批号:18189,浓度:0.005 mol/L)均购自美国 Sigma 公司;戊巴比妥钠(成都思天德生物科技有限公司,批号:57-33-0);苏木素-伊红(HE)试剂(北京索莱宝科技有限公司,批号:G1120);甲醇、氢氧化钠为色谱纯,其余试剂均为分析纯;生理盐水为本课题组自制,水为超纯水。

1.3 动物

清洁级 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,体质量 200~220

g,购自吉林大学动物中心,动物生产许可证号:SCXK(吉)2016-0001。大鼠均在 SPF 级动物室(室温为 20~25 ℃,湿度为 60%~70%,昼夜交替照明)适应性饲养 1 周,期间给予普通饲料、饮水。本实验条件和方法已通过长春中医药大学动物实验中心伦理委员会审查合格。

2 方法

2.1 猴头菌多糖提取物的制备

取猴头菌菌丝提取物粉末适量,加 5 倍量水(mL/g)溶解,在 50 ℃ 条件下持续搅拌 12 h 后,以 3 000 r/min 离心 5 min,取上清液;重复上述操作 2 次,合并上清液,浓缩;加入 95% 乙醇直至乙醇终体积分数为 80%,进行沉淀;过滤,取醇沉物,冷冻干燥,粉碎,即得猴头菌多糖提取物(每 1 g 提取物相当于原菌丝提取物 5 g,收率约为 20%)。

2.2 猴头菌多糖对溃疡性结肠炎模型大鼠的改善作用考察

2.2.1 分组及给药 取 SD 大鼠 40 只,禁食不禁水 24 h 后,随机分为空白组、模型组和猴头菌多糖低、高剂量组(0.5、1.0 g/kg,以猴头菌多糖提取物计算;剂量根据人体用药剂量按文献方法^[9]折算后制定),每组 10 只。各组大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,然后将直径 3 mm 的灌肠硅胶管经其肛门缓慢插入约 8 cm,用注射器缓慢注入生理盐水(空白组)或 10% 乙酸溶液(模型组和给药组)1.5 mL,计时 10~15 s 后,用生理盐水灌肠冲洗。大鼠清醒后常规饲养,次日起给药组大鼠灌胃猴头菌多糖提取物溶液(以水为溶剂配制成 0.1、0.2 g/mL 的药液,灌胃前混匀),空白组和模型组大鼠灌胃相应体积的水,连续给药 10 d。

2.2.2 猴头菌多糖对大鼠结肠组织病理学变化的影响观察 给药完毕后次日,各组大鼠在禁食不禁水 12 h 后,称定体质量,按“2.2.1”项下方法麻醉,迅速剖腹,取其部分结肠组织,用 4% 甲醛固定 24 h 以上,然后以 HE 染色,在显微镜下观察结肠黏膜上皮组织病理学变化。

2.2.3 猴头菌多糖对大鼠溃疡性结肠炎的疗效评价 取大鼠部分结肠段,用生理盐水清洗后,以肉眼观察其黏膜病变情况并进行评分,以评价疗效。溃疡评分标准:结肠段未见损伤、形态完整,记 0 分;结肠段充血,记 1 分;结肠段溃疡面积小于总肠段面积的 25%,记 2 分;结肠段溃疡面积占总肠段面积的 25%~50%,记 3 分;结肠段溃疡面积大于总肠段面积的 50%,记 4 分^[10]。

2.3 大鼠结肠内容物中 SCFAs 的含量测定

采用气相色谱(GC)-质谱(MS)联用法测定 SCFAs 含量。

2.3.1 样品预处理 在进行大鼠解剖的过程中,各组取 8 只大鼠收集其结肠内容物 1~2 粒,液氮冻存,备用。取肠道内容物,冰浴中解冻(减少待测成分的降解),参照文献方法^[11]操作,取样约 50 mg,加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液 300 μL 匀浆后,在 4 ℃ 下以 500 r/min 离心 20

min;取上清液,与2,4-二硝基苯肼盐酸盐进行2次衍生化反应;在4℃下以1 000 r/min离心15 min,取上清液,加入等体积氯仿萃取,然后量取0.5 mL氯仿萃取层转移至具盖顶空进样瓶中,备测。

2.3.2 色谱条件 色谱柱:Restek Rxi™-5MS色谱柱(30 m×250 μm);程序升温(45℃保持1 min;从45℃以20℃/min升至260℃;从260℃以40℃/min升至320℃;320℃保持2 min);进样口温度:270℃;载气:氮气;进样口温度:270℃;流速:1.0 mL/min;顶空进样。

2.3.3 质谱条件 采用电子轰击离子源;电子轰击能量:70 eV;离子源温度:220℃;检测器温度:270℃;检测电压:1 450 V;质谱图采集速率:20 spectra/s;质谱扫描质量范围:38~550 Da。

2.3.4 方法学考察 参照前期研究方法^[12-13],取乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸标准品适量,以水配制成不同浓度梯度的系列单一标准品溶液(质量浓度范围见表1,临用现配),按“2.3.1”项下“与2,4-二硝基苯肼盐酸盐进行2次衍生化反应……转移至具盖顶空进样瓶中”的步骤进行预处理操作,再按“2.3.2”和“2.3.3”项下色谱和质谱条件进样分析。以各待测SCFAs的信号强度(x)为横坐标、质量浓度(ng/mL, y)为纵坐标进行线性回归,得标准曲线方程,详见表1。结果显示,标准曲线方程的 R^2 均大于0.993,表明6种SCFAs在相应质量浓度范围内线性关系良好。同时,进行精密密度、检出限、稳定性、加样回收率等考察,结果表明该方法可行,可用于大鼠结肠内容物中SCFAs的含量测定。

表1 6种SCFAs的标准曲线方程及质量浓度范围
Tab 1 Standard curve equations and concentration ranges of 6 kinds of SCFAs

待测SCFAs	标准曲线方程	质量浓度范围,ng/mL	R^2
乙酸	$y=63.7611x-2\ 822.89$	40~5 000	0.995 0
丙酸	$y=117.095x-5\ 526.71$	10~2 500	0.993 7
丁酸	$y=12.011.7x+786.932$	0.5~1 000	0.998 0
异丁酸	$y=58\ 135.8x+4\ 316.42$	0.25~500	0.998 4
戊酸	$y=6\ 751.54x+5\ 534.85$	0.5~1 000	0.994 8
异戊酸	$y=38\ 058.4x+522.216$	0.1~200	0.995 3

2.4 统计学方法

所有试验至少独立重复3次。采用GraphPad Prism 7统计软件对试验数据进行处理。大鼠结肠溃疡评分以 $\bar{x} \pm s$ 表示,SCFAs含量以中位数(M)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey's或Dunnnett's检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 猴头菌多糖对溃疡性结肠炎模型大鼠的改善作用

3.1.1 大鼠结肠黏膜上皮组织病理学变化 显微镜下可见,空白组大鼠结肠黏膜上皮组织完整,杯状细胞清晰;模型组大鼠结肠黏膜上皮组织和隐窝呈囊性扩张,中性粒细胞和单核炎症细胞浸润明显;猴头菌多糖各剂量组大鼠结肠黏膜上皮组织中单核炎症细胞渗透明显

减少,上皮细胞变性和坏死现象明显改善,详见图1。

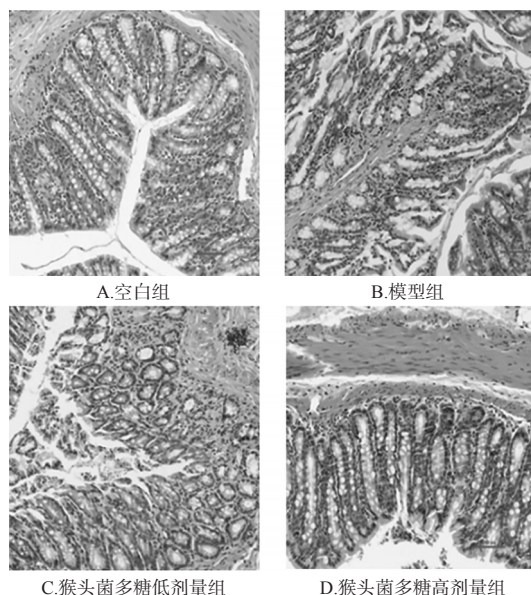


图1 各组大鼠结肠黏膜上皮组织显微图(HE染色,×40)
Fig 1 Micrograph of colonic mucosal epithelial tissue of rats in each group(HE staining, ×40)

3.1.2 大鼠结肠黏膜外观及溃疡评分 空白组大鼠结肠黏膜完整,无明显充血或炎症现象;模型组大鼠结肠黏膜充血,黏膜上皮明显糜烂;猴头菌多糖各剂量组大鼠结肠黏膜仅见轻微充血,上皮皱褶基本恢复到无病变状态。与空白组比较,模型组大鼠结肠黏膜溃疡评分显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,猴头菌多糖各剂量组大鼠结肠黏膜溃疡评分均显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表2。

表2 各组大鼠结肠黏膜溃疡评分($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Ulcer score of colonic mucosal epithelium of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	溃疡评分
空白组	10	0.2±0.3
模型组	10	2.6±0.3 ^{***}
猴头菌多糖低剂量组	10	2.1±0.5 [#]
猴头菌多糖高剂量组	10	1.4±0.6 ^{##}

注:与空白组比较,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. blank group, ^{**} $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

3.2 大鼠结肠内容物中SCFAs的含量测定结果

各组大鼠结肠内容物中检出的SCFAs主要为乙酸、丙酸、丁酸、戊酸,其中乙酸含量最高,丙酸、丁酸次之,戊酸含量最低。以乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸的含量之和计算SCFAs总量。结果,与空白组比较,模型组大鼠肠道内容物中除丙酸外的5种SCFAs及SCFAs总量均显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$),其中乙酸、丁酸含量分别下降22.68%、88.74%;与模型组比较,猴头菌多糖各剂量组大鼠肠道内容物中除丙酸外的5种SCFAs及SCFAs总量均显著升高,差异均有统

计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且呈一定的剂量依赖趋势, 其中猴头菌多糖高剂量组的乙酸含量与空白组最为接近。这提示猴头菌多糖能够逆转乙酸诱导的溃疡性结肠炎模型大鼠肠道内容物中各种 SCFAs 及其总含量的降低。各组大鼠结肠内容物中 SCFAs 的含量测定结果见表 3(注: 结肠内容物中 SCFAs 含量测定数据的离散度较大, 故采用中位数表示结果)。

表 3 各组大鼠结肠内容物中 SCFAs 的含量($M, \text{ng/mg}$)
Tab 3 The content of SCFAs in the colon of rats in each group($M, \text{ng/mg}$)

组别	n	乙酸	丙酸	丁酸	异丁酸	戊酸	异戊酸	SCFAs 总量
空白组	8	1455.45	162.12	214.23	18.12	35.24	12.11	1897.27
模型组	8	1125.36**	144.25	24.12**	10.20**	15.22**	4.26**	1323.41**
猴头菌多糖低剂量组	8	1315.28*	155.12	43.12*	17.25**	29.14*	8.28*	1568.19*
猴头菌多糖高剂量组	8	1400.59**	159.20	60.15**	16.12*	29.12*	8.43*	1673.61**

注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. blank group, ** $P < 0.01$; vs. model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

猴头菌是我国治疗消化道疾病常用的传统菌类药物, 但关于其抗溃疡性结肠炎的药理活性尚缺少系统的动物模型研究。本研究通过乙酸灌肠诱导建立大鼠溃疡性结肠炎模型, 采用猴头菌多糖给药进行干预治疗, 结果显示, 大鼠结肠黏膜上皮组织病理损伤程度明显减轻, 肠黏膜溃疡评分显著下降, 提示猴头菌多糖对大鼠溃疡性结肠炎有明显改善作用。

多糖作为碳水化合物类大分子, 学界普遍认为其不易经肠黏膜吸收入血而发挥药效, 其药理活性的发挥与肠道菌群关系密切^[13]。肠道生态系统的组成是动态的, 易受饮食因素以及炎症性肠病疾病等的影响, 这些因素可能通过影响宿主的营养和健康状况继而改变肠道微生物群的代谢活动^[14]。近端结肠是一个主要的糖酵解环境, 碳水化合物进入结肠后可被快速发酵^[15]。SCFAs 是碳水化合物经肠道菌群代谢后与溃疡性结肠炎的发生最为密切相关的主要代谢产物, 具有促进回肠和结肠的运动、增加肠黏膜血流及氧的摄入、促进肠黏膜上皮细胞增殖、防止肠黏膜上皮细胞和腺体萎缩、促进术后组织修复等作用^[16]。SCFAs 主要包括乙酸、丙酸、丁酸等, 是宿主细胞的重要能量来源, 其中丁酸是结肠上皮细胞能量的主要来源^[17]; 乙酸则参与了脂肪生成和糖异生过程^[18]; 乙酸和丁酸还可以激活短链脂肪酸受体 GPR41 和 GPR43, 从而发挥抗炎作用^[19]; 丁酸盐对结肠上皮细胞具有保护作用, 而丙酸盐对肝脏细胞也有保护作用^[20]。因此, 肠道微生物群发酵产物 SCFAs 可能有益于人类肠道内环境的修复及改善溃疡性结肠炎的症状。研究者认为, 肠道中产生的 SCFAs 可以通过降低与炎症肠病和肠癌相关的危险因素来改善宿主健康^[21]。基于此, 本研究考察了猴头菌多糖干预治疗后, 溃疡性结肠炎模型大鼠结肠中的 SCFAs 含量变化, 旨在揭示猴头菌多糖的治疗靶点。

以往多采用 GC 法测定 SCFAs 含量, 该方法灵敏度低且样品制备方法较为繁琐。而随着 GC-MS 联用技术的广泛应用, SCFAs 含量的检测灵敏度和准确度大大提升, 使得将 SCFAs 含量检测结果作为溃疡性结肠炎等炎症性肠病的筛查及治疗指标成为可能。本研究采用 GC-MS 技术检测溃疡性结肠炎模型大鼠肠道内容物中 SCFAs 的含量, 该方法灵敏度高、重复性好、分辨性强。结果显示, 溃疡性结肠炎模型组大鼠结肠内容物中以乙酸和丁酸为代表的 SCFAs 含量较正常组显著降低; 而给予猴头菌多糖干预则能使大鼠结肠内容物中 SCFAs 的含量(除丙酸外)显著增加。笔者推测, 乙酸、丁酸等 SCFAs 的增加是猴头菌多糖发挥对肠黏膜的保护作用, 继而发挥预防和治疗溃疡性结肠炎的重要作用机制。

综上所述, 猴头菌多糖能有效改善溃疡性结肠炎模型大鼠的肠黏膜组织病变程度和溃疡评分, 能够调节结肠内容物中的 SCFAs(尤其是乙酸、丁酸)的含量, 这可能是猴头菌多糖抗溃疡性结肠炎的重要机制。但乙酸、丁酸等如何发挥生理活性及其具体的作用通路尚不清楚, 后续研究可考虑采用细胞或动物模型进一步验证 SCFAs 等代谢产物的确切作用通路和蛋白靶点。

参考文献

- [1] WANG M, GAO Y, XU DU, et al. A polysaccharide from cultured mycelium of *Hericium erinaceus* and its anti-chronic atrophic gastritis activity[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 81: 656-661.
- [2] REN Y, GENG Y, DU Y, et al. Polysaccharide of *Hericium erinaceus* attenuates colitis in C57BL/6 mice via regulation of oxidative stress, inflammation-related signaling pathways and modulating the composition of the gut microbiota[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 57: 67-76.
- [3] 李蒙子, 邱芳驰, 陈倩, 等. 中药多糖调节肠道菌群研究进展[J]. *中国食物与营养*, 2017, 23(12): 13-16.
- [4] SHAO S, WANG D, ZHENG W, et al. A unique polysaccharide from *Hericium erinaceus* mycelium ameliorates acetic acid-induced ulcerative colitis rats by modulating the composition of the gut microbiota, short chain fatty acids levels and GPR41/43 receptors[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 71: 411-422.
- [5] WANG M, GAO Y, XU D, et al. *Hericium erinaceus* (Yamabushitake): a unique resource for developing functional foods and medicines[J]. *Food Funct*, 2014, 5(12): 3055-3064.
- [6] WANG D, ZHANG Y, YANG S, et al. A polysaccharide from cultured mycelium of *Hericium erinaceus* relieves ulcerative colitis by counteracting oxidative stress and improving mitochondrial function[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 125: 572-579.
- [7] 陈燕, 曹郁生, 刘晓华. 短链脂肪酸与肠道菌群[J]. *江西科学*, 2006, 24(1): 38-40.
- [8] 刘松珍, 张雁, 张名位, 等. 肠道短链脂肪酸产生机制及生

青风藤碱血药浓度测定及其在家兔体内的药动学研究^Δ

朱丽媛^{1,2*}, 彭朝蕊¹, 赵远翠¹, 刘云宽¹, 马云淑^{1,2#} (1. 云南中医药大学中药学院, 昆明 650500; 2. 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 昆明 650500)

中图分类号 R969.1; R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2767-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.07

摘要 目的: 建立检测家兔血浆中青风藤碱浓度的方法, 并进行药动学研究。方法: 将家兔按性别分组, 每组6只。所有家兔均于耳缘静脉单次注射青风藤碱药液(5 mg/kg), 分别于给药前及给药后5、10、15、30、45、60、90、120、180、240 min时于其耳缘静脉取血1 mL, 分离血浆, 用乙酸乙酯萃取后, 以青藤碱为内标, 采用高效液相色谱法(HPLC)测定。色谱柱为Agilent Zorbax Extend-C₁₈, 流动相为甲醇-2 mmol/L磷酸氢二钠水溶液(含0.016%三乙胺, pH为9.8)(45:55, V/V), 流速为1 mL/min, 检测波长为262 nm, 柱温为30 ℃, 进样量为20 μL。采用DAS 3.0软件计算药动学参数, 采用t检验考察两组的差异。结果: 青风藤碱检测血药浓度的线性范围为0.1~5.0 mg/L, 定量下限为0.1 mg/L, 最低检测限为0.08 mg/L; 日内、日间RSD均小于10%, 准确度为(99.80±8.21)%~(103.61±8.55)%, 提取方法不影响待测物的定量分析。家兔静脉单次注射青风藤碱的平均药-时曲线符合二室模型, 所有家兔的分布半衰期为(10.99±2.52)min, 消除半衰期为(147.08±32.41)min, AUC_{0-t}为(190.82±30.82)mg·min/L, AUC_{0-∞}为(289.82±73.27)mg·min/L; 雌、雄家兔主要药动学参数组间比较, 差异均无统计学意义(P>0.05)。结论: 本研究建立的HPLC法操作简便、专属性强、灵敏度高, 可用于青风藤碱血药浓度的测定及药动学的研究。该化合物在家兔体内的药动学过程符合二室模型, 药动学参数无性别差异, 且分布迅速、消除较快。

关键词 青风藤碱; 药动学; 家兔; 血药浓度; 高效液相色谱法

Determination of the Concentration of Sinoacutine and Its Pharmacokinetic Study in Rabbits

ZHU Liyuan^{1, 2}, PENG Chaorui¹, ZHAO Yuancui¹, LIU Yunkuan¹, MA Yunshu^{1, 2} (1. School of TCM, Yunnan University of TCM, Kunming 650500, China; 2. Yunnan Key Laboratory of Dai and Yi Medicine, Kunming 650500, China)

- 理功能的研究进展[J]. 广东农业科学, 2013, 40(11): 99-103.
- [9] EKSTRÖM GM. Oxazolone-induced colitis in rats: effects of budesonide, cyclosporin A, and 5-aminosalicylic acid [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1998, 33(2): 174-179.
- [10] HU JL, NIE SP, XIE MY. High pressure homogenization increases antioxidant capacity and short-chain fatty acid yield of polysaccharide from seeds of *Plantago asiatica* L. [J]. *Food Chem*, 2013, 138(4): 2338-2345.
- [11] 徐叔云. 实验药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 1861.
- [12] XIE GX, WANG XN, LIU P, et al. Distinctly altered gut microbiota in the progression of liver disease[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 19355-19366.
- [13] ZHAO L, NI Y, SU M, et al. High throughput and quantitative measurement of microbial metabolome by gas chromatography/mass spectrometry using automated alkyl chloroformate derivatization[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(10): 5565-5577.
- [14] ZHANG XY, ZHAO SW, SONG XB, et al. Inhibition effect of glycyrrhiza polysaccharide(GCP) on tumor growth through regulation of the gut microbiota composition[J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 137(4): 324-332.
- [15] 杨崇美, 管辉. 肠道微生态系统与IBD、IBS[J]. 山东医药, 2011, 51(35): 101-102.
- [16] 台卫平, 罗和生. 短链脂肪酸在溃疡性结肠炎病因及治疗中的作用[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8(1): 96-97.
- [17] 钟海平, 郑红斌. 丁酸在溃疡性结肠炎中的作用概述[J]. 中医临床研究, 2011, 3(9): 113-115.
- [18] 王中华, 冯仰廉. 瘤胃乙: 丙酸比例对绵羊丙酸糖异生和葡萄糖代谢的影响[J]. 草食家畜, 1999(1): 36-39.
- [19] 王永安, 张春雷, 王艳红, 等. 短链脂肪酸受体GPR41、GPR43的信号通路及生理功能[J]. 中国牛业科学, 2013, 39(6): 49-53.
- [20] 费嘉, 罗军涛, 章小英, 等. 短链脂肪酸在肠道菌群调节人体能量代谢中的作用[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(5): 370-373.
- [21] 李国法, 郑红斌. 短链脂肪酸对结肠病变及作用机制的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(32): 3425-3427.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81673682); 云南省科技厅-云南中医学院应用基础研究联合专项项目[No.2018FF001-(008)]

* 硕士研究生。研究方向: 中药药剂学。E-mail: zhuliyuan9@163.com

通信作者: 教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 药剂学、生物药剂学、药动学。E-mail: yunshuma2@126.com

(收稿日期: 2019-04-11 修回日期: 2019-08-28)

(编辑: 段思怡)