千金子脂肪油自组装胶束对4种千金子素在大鼠体内肠吸收的影响研究Δ

袁曜晖[1*]，许晶晶[2]，郭　菲[3]，张　超[1#]，王英姿[4]（1.山东中医药大学药学院，济南　250355；2.山东东阿国胶堂阿胶药业有限公司，山东 东阿　252201；3.山东中医药大学附属医院检验科，济南　250011；4.北京中医药大学中药学院，北京　100102）

中图分类号　R284；R94　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2020）04-0435-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2020.04.09

摘　要　目的：研究不同千金子脂肪油用量的自组装胶束对4种千金子素（千金子素L_1、L_2、L_3、L_8）在大鼠体内肠吸收的影响。方法：以千金子脂肪油（用量分别为0、0.2、0.4、1、4 g/L）和脱氧胆酸钠为载体，过量加入4种千金子素（40 mg/L），制备包载4种千金子素的自组装胶束溶液，作为含药肠灌流液。取大鼠60只，建立在体单向肠灌流模型，按不同千金子脂肪油用量的含药肠灌流液分组进行不同肠段（十二指肠、空肠、回肠、结肠）的灌流实验。采用高效液相色谱法测定灌流前后肠灌流液中4种千金子素的含量；计算在不同肠段中4种千金子素的吸收速率常数（K_a）和小肠表观吸收系数（P_{eff}）；选择吸收效果较好的回肠段为对象，考察并计算4种千金子素的累积吸收量。结果：不同千金子脂肪油用量的自组装胶束均能使4种千金子素在各肠段的K_a值和P_{eff}值呈现不同程度的升高。当千金子脂肪油用量为0.4 g/L时，4种千金子素在各肠段均呈现最大吸收，且与不含脂肪油组比较其P_{eff}值均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。按不同脂肪油用量组各肠段的K_a、P_{eff}值排序，4种千金子素在各肠段的吸收效果总体上呈现空肠最好、结肠最差的趋势。与不含脂肪油组比较，千金子脂肪油用量为0.2～4 g/L时，4种千金子素在大鼠回肠的累积吸收量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），且以0.4 g/L脂肪油用量组为最高。结论：不同用量千金子脂肪油与脱氧胆酸盐形成的自组装胶束能不同程度地增加千金子素L_1、L_2、L_3、L_8在大鼠各肠段的吸收量，且空肠为上述千金子素的主要吸收肠段。

关键词　千金子脂肪油；千金子素；自组装胶束；大鼠；肠吸收

Study on the Effects of Self-assembly Micelles of Euphorbiae Semen Fatty Oil on Intestinal Absorption of 4 Kinds of Euphorbia in Rats

YUAN Yaohui[1], XU Jingjing[2], GUO Fei[3], ZHANG Chao[1], WANG Yingzi[4] (1. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China; 2. Shandong Dong'e Guojiaotang E-Jiao Pharmaceutical Co., Ltd., Shangdong Dong'e 252201, China; 3. Department of Laboratory, the Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China; 4. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of TCM, Beijing 100102, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE: To study the effects of different amounts of Euphorbiae Semen fatty oil in self-assembly micelles on intestinal absorption of 4 kinds of euphorbia (euphorbia L_1, L_2, L_3, L_8) in rats. METHODS: The self-assembled micelle solution containing 4 kinds of euphorbia was prepared by adding 4 kinds of euphorbia (40 mg/L) in excess, using the fatty oil of Euphorbia Semen (0.2, 0.4, 1, 4 g/L) and sodium deoxycholate as carriers. Totally 60 rats were collected to establish in-situ one-way intestinal perfusion model. Different intestinal segments (duodenum, jejunum, ileum, colon) were perfused with drug-containing intestinal perfusion fluid according to different dosage of Euphorbiae Semen fatty oil. HPLC method was adopted to determine the contents of 4 kinds of euphorbia in the intestinal perfusate before and after perfusion. The absorption rate constant (K_a) and apparent absorption coefficient (P_{eff}) of 4 kinds of euphorbia in different intestinal segments were calculated. The ileum segment with better absorption was selected as the object to investigate and calculate the accumulative absorption of 4 kinds of euphorbia. RESULTS: The self-assembled micelles formed by different concentrations of fatty oil of Euphorbiae Semen could significantly increase the absorption of 4 kinds of euphorbia in different intestinal segments to different extents. When the dosage of Euphorbiae Semen fatty oil was 0.4 g/L, the intestinal absorption effect of 4 kinds of euphorbia were all the best; the P_{eff} was significantly increased, compared with no fat oil group ($P<0.05$ or $P<0.01$). According to the order of K_a and P_{eff} of each intestinal segment in different fatty oil dosage groups, the absorption effect of 4 kinds of euphorbia in each intestinal segment was the best in jejunum and the worst in colon. Compared with no fatty oil group, when the amount of Euphorbiae Semen fatty

Δ 基金项目：国家自然科学基金资助项目（No.81673597）；山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目（No.BS2014YY053）

＊硕士研究生。研究方向：中药新药研发、中药炮制原理。电话：0531-89628590。E-mail：1310394709@qq.com

＃通信作者：副教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药新药研发、中药炮制原理。电话：0531-89628590。E-mail：tougaotcm@163.com

oil was 0.2-4 g/L, accumulative amount of 4 kinds of euphorbia in the ileum of rats increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the highest in 0.4 g/L Euphorbiae Semen fatty oil group. CONCLUSIONS: The self-assembly micelles composed of Euphorbiae Semen fatty oil and deoxycholate can increase the absorption of euphorbia L_1, L_2, L_3, L_8 in each intestinal segment to different extent, and the jejunum is the main absorption segment.

KEYWORDS Euphorbiae Semen fatty oil; Euphorbia; Self-assembled micelle; Rat; Intestinal absorption

千金子为大戟科植物续随子(*Euphorbia lathyris* L.)的干燥成熟种子,主要含有脂肪油和二萜醇酯类成分(如千金子素)[1]。千金子素L_1、L_2、L_3、L_8的母核结构均为千金二萜烷型[2](见图1)。其中,千金子素L_1、L_2具有泻下作用[1]和抗白血病作用[3-4];千金子素L_1、L_2、L_3、L_8具有逆转肿瘤多药耐药的作用[5-6]。这些二萜醇酯类成分发挥生理活性的同时还表现出对胃肠黏膜的强烈刺激性[7]和细胞毒性[8]。千金子历代炮制方法以去油制霜法为主,即药材经适当加热去除部分脂肪油而制成松散粉末,从而达到降低毒性、缓和药性的目的[9]。有研究认为,对千金子进行去油制霜可除去部分二萜醇酯类成分,从而达到"减量去毒"的目的[8,10-11]。但本课题组在前期急性毒性实验中发现,分别单独给予千金子素L_1、L_3后未引起小鼠死亡;但在同等剂量下,两者分别与千金子脂肪油同时应用却可导致小鼠死亡,表现出毒性的增加[12]。由此推断,千金子的毒性亦与其所含的脂肪油成分有关。千金子脂肪油主要包括脂肪酸及其酯类,其中含量较高的化合物为十八碳-6-烯酸(73.070%)、丙二醇单油酸酯(10.902%)、棕榈酸(6.301%)等[13]。脂肪油中的脂肪酸酯类成分具有脂肪长链,可与体内的胆酸盐共同作用自组装形成胶束,而该自组装胶束可作为千金子二萜醇酯类化合物的载体,增加千金子中该类化合物的溶解度以及体内吸收,从而增加了千金子的毒性[12]。基于此,本研究通过建立大鼠在体肠灌流模型,考察4种千金子素(即千金子素L_1、L_2、L_3、L_8)在十二指肠、空肠、回肠、结肠中的药物吸收速率常数(K_a)和小肠表观吸收系数(P_{eff})值,以及其在吸收较好肠段的累积吸收量,旨在明确千金子脂肪油与脱氧胆酸钠所形成的自组装胶束对4种千金子素肠吸收的影响,从药剂学的角度进一步探讨千金子去油制霜炮制方法可能的减毒机制。

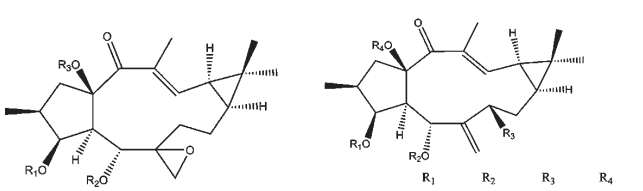


图1 千金子素L_1、L_2、L_3、L_8的化学结构

Fig 1 Chemical structures of euphorbia L_1, L_2, L_3, L_8

1 材料

1.1 仪器

LC-10A型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);KQ-250E型医用超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);pHS-3C型精密pH计(上海雷磁仪器股份有限公司);AE240型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);CT15RT型高速低温离心机[天美(中国)科学仪器有限公司];BT600FJ型蠕动泵(保定创锐精密泵业有限公司)。

1.2 药品与试剂

千金子素L_1、L_2、L_3、L_8单体化合物(本课题组自制,由千金子的石油醚部位经反复硅胶柱层析分离得到;经高效液相色谱法测定、面积归一化法计算,其纯度均大于98.0%[14]);千金子脂肪油(本课题组自制,取自千金子石油醚部位经硅胶柱层析所得最初的流分,其主要为脂肪酸[13]);脱氧胆酸钠(批号:20160626)、磷酸二氢钠(批号:20150522)、氢氧化钠(批号:20171110)、氯化钠(批号:20151207)、氯化钾(批号:20150618)、碳酸氢钠(批号:20171116)、六水合氯化镁(批号:20150526)、葡萄糖(批号:20160615)、氯化钙(批号:20150119)均购自国药集团化学试剂有限公司;氯化钠注射液(石家庄鹏海制药有限公司,批号:1605302105,规格:500 mL∶4.5 g;用作生理盐水);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为高纯水。

1.3 动物

健康Wistar大鼠,雌性,体质量(250±20)g,由山东省朋悦实验动物有限公司提供,动物生产合格证号:SCXK(鲁)20140007。动物均适应性饲养1周后进行实验。

2 方法

2.1 溶液制备

2.1.1 Krebs-Ringer's(K-R)缓冲液 称取氯化钠7.8 g、氯化钾0.35 g、碳酸氢钠1.37 g、磷酸二氢钠0.32 g、六水合氯化镁0.02 g、葡萄糖1.4 g,加入适量水溶解;另称取氯化钙0.37 g,加适量水溶解;将上述溶液混匀,加水定容至1 L,即得pH 7.4的K-R缓冲液。

2.1.2 包载4种千金子素的自组装胶束溶液 根据前期研究成果[12],制备不同千金子脂肪油用量的包载千金子素自组装胶束溶液。分别称取相应量的千金子脂肪油

和千金子素 L_1、L_2、L_3、L_8单体化合物置于圆底烧瓶中，加乙酸乙酯适量使溶解，水浴旋转蒸发并真空干燥除去有机溶剂，制成脂膜；加入4.96 g/L脱氧胆酸钠溶液[以pH 7.4的磷酸盐缓冲液（PBS）为溶剂制备]适量，水浴下超声处理；离心，以0.22 μm微孔滤膜滤过，即得澄清透明的胶束溶液。在制备过程中，4种千金子素均过量加入（40 mg/L），在离心、膜滤过环节均可除去未被胶束增溶的游离千金子素。按照千金子脂肪油的不同用量（脂肪油在自组装胶束溶液中质量浓度分别为0、0.2、0.4、1、4 g/L[12]），将所制备的自组装胶束溶液依次作为不同千金子脂肪油用量组的含药肠灌流液。

2.2 在体单向肠灌流实验

大鼠禁食不禁饮18 h后，腹腔注射10%水合氯醛（3 mL/kg）麻醉，背位固定于手术台上，从腹中线剑突下2 cm打开腹腔，分离不同部位肠段，即十二指肠段（自幽门上行1 cm处起往下10 cm止）、空肠段（自幽门上行15 cm起往下10 cm止）、回肠段（自盲肠上行20 cm起往下10 cm止）、结肠段（自盲肠下行1 cm起往下10 cm止）。在各部位肠段的两端处各剪一个V型小口，将硅胶管小心插入并结扎（注意避免伤及血管），将其摆至合适形状使灌流液能流通顺畅为宜，然后用浸有生理盐水的脱脂棉覆盖伤口保湿，同时以红外灯保温，进行灌流实验。

取大鼠60只，按“2.1”项下不同千金子脂肪油用量的含药自组装胶束肠灌流液分为5组，每组12只大鼠，每2只大鼠作为一个小组，每一小组分别测定其中2个肠段，将小组测定数据合并为一组完整的4个肠段测定数据（n=6）。用37 ℃预热的生理盐水从大鼠肠段上端开口轻缓冲洗肠道（方向勿反），直至将肠内容物冲洗干净，再通空气排净生理盐水，接着用37 ℃预热的K-R缓冲液进行在体单向灌流（灌流方向同肠道内容物冲洗方向一致），以建立灌流体系；然后将“2.1.2”项下不同组别的含药肠灌流液以1 mL/min的速度灌流2 min，使其充满肠段，再以0.2 mL/min平衡约45 min。平衡结束后，在每段肠段的进口处放置已称定质量的小瓶（装有10 mL含药肠灌流液）用以进液，出口处放置已称定质量的小瓶用以收集流出液。在进口处硅胶管插入灌流液小瓶的同时，将出口处的硅胶管插入收集液小瓶。保持0.2 mL/min的流速不变，从出口端硅胶管流出第一滴液体时开始计时，每隔20 min迅速更换下一组进出口处的小瓶，共持续收集120 min。待流出液放冷至室温后，称量各灌流液小瓶和流出液小瓶的质量，并计算灌入和流出的肠灌流液质量。实验结束后，将相应实验肠段剪下，沿肠管剪开，平铺于坐标纸上，测量小肠内径与长度。

2.3 肠灌流液中4种千金子素的含量测定

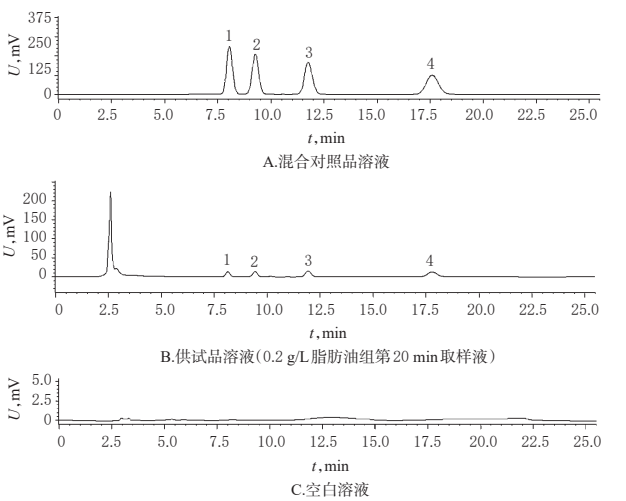
2.3.1 混合对照品溶液的制备 取千金子素 L_1、L_2、L_3、L_8单体化合物各适量，精密称定，置同一5 mL量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，得质量浓度分别为544、530、556、568 mg/L的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 “2.2”项下灌流实验结束后，取各灌流液小瓶和收集液小瓶中的液体置于分液漏斗中，以乙酸乙酯提取3次，每次10 mL；合并提取液，水浴蒸干，残渣以甲醇溶解并定容至2 mL量瓶中，摇匀，即得。

2.3.3 空白溶液的制备 按“2.2”项下方法建立大鼠在体单向灌流模型，以K-R缓冲液代替含药肠灌流液进行灌流实验，收集流出液作为空白肠灌流液，按“2.3.2”项下方法制备空白溶液。

2.3.4 色谱条件 色谱柱：Inertsil ODS-3（250 mm×4.6 mm，5 μm）；柱温：25 ℃；流动相：甲醇-水（82∶18，V/V）；流速：1.0 mL/min；检测波长：275 nm；进样量：20 μL。

2.3.5 含量测定方法学考察 参照前期研究[12]进行4种千金子素含量测定的方法学考察。取“2.3.1”～“2.3.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液（0.2 g/L脂肪油组第20 min取样液）和空白溶液，按“2.3.4”项下色谱条件进样，记录色谱图，见图2。结果，空白肠灌流液不干扰4种千金子素成分的测定（图2）；千金子素 L_1、L_2、L_3、L_8检测质量浓度的线性范围分别为1.088～87.04 mg/L（r=0.999 7）、1.06～84.8 mg/L（r=0.999 8）、1.112～88.96 mg/L（r=0.999 7）、1.136～90.88 mg/L（r=0.999 7）；精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%（n=6）；加样回收率分别为（101.27±2.15）%、（98.70±1.81）%、（97.77±1.34）%、（102.38±1.58）%，RSD均小于2.5%（n=6）。



注：1.千金子素 L_8；2.千金子素 L_1；3.千金子素 L_3；4.千金子素 L_2

Note：1. euphorbia L_8；2. euphorbia L_1；3. euphorbia L_3；4. euphorbia L_2

图2 高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms

2.3.6　灌流实验过程中4种千金子素的稳定性考察　根据前期预试验结果，选取脂肪油用量为0.2 g/L的自组装胶束溶液，共5份，分别于37 ℃保温0、1、2、3、4 h时，经0.22 μm微孔滤膜滤过后，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.3”项下色谱条件进样测定并按标准曲线法计算4种千金子素的含量，考察在37 ℃肠灌流过程中自组装胶束及其中成分的稳定性。结果，自组装胶束的性状稳定，未见絮凝或沉淀等现象；4种千金子素在不同时间点间的含量RSD均小于2.5%（n=5），见表1。这表明，自组装胶束及其中的4种千金子素成分在37 ℃条件下进行肠灌流4 h过程中稳定性良好。

表1　37 ℃肠灌流过程中4种千金子素的稳定性试验结果

Tab 1　Results of stability tests of 4 kinds of euphorbia during intestinal perfusion at 37 ℃

待测成分	不同时间点的含量，mg/L					含量（$\bar{x}\pm s$），mg/L	RSD，%
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h		
千金子素L_1	8.41	8.37	8.14	8.19	8.29	8.28±0.11	1.39
千金子素L_2	4.15	4.37	4.17	4.25	4.32	4.25±0.09	2.22
千金子素L_3	7.28	7.13	7.23	7.22	7.09	7.19±0.08	1.08
千金子素L_8	11.82	12.17	12.12	11.71	11.98	11.96±0.19	1.63

2.3.7　样品含量测定　“2.2”项下灌流实验结束后，分别取不同组别含药肠灌流液的灌流液和流出液，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.3.3”项下色谱条件进样分析，以标准曲线法计算含量。

2.4　数据处理

根据“2.3”项下测定结果，按下列公式计算4种千金子素的K_a值（min^{-1}）和P_{eff}值（cm/min）：$K_a=(1-c_{out}V_{out}/c_{in}V_{in})\cdot Q_{in}/V$；$P_{eff}=-Q_{in}\cdot\ln(c_{out}V_{out}/c_{in}V_{in})/A$。式中，$c_{in}$和$c_{out}$分别为该肠段灌流液和流出液中待测成分的质量浓度（mg/L）；V_{in}和V_{out}分别为该肠段灌流液的灌流液和流出液体积（mL，均以液体质量表示）；Q_{in}为灌流速度（mL/min）；V为该灌流肠段的体积（cm^3），$V=\pi R^2L$[R为该肠段半径（cm），L为该肠段的长度（cm）]；A为该灌流肠段的表面积（cm^2），$A=2\pi RL$。其中，灌流液的流入与流出体积按重量法[15]进行校正，即假设进出口的灌流液密度一样，则灌流液和流出液的质量可分别表示灌流液和流出液的体积。此外，按以下公式计算4种千金子素各个时间点的吸收量（Q）：$Q=c_{in}V_{in}-c_{out}V_{out}$；将各个时间点某肠段的吸收量累加，即为千金子素的累积吸收量。

采用SPSS 17.0软件进行统计处理，实验数据以$\bar{x}\pm s$表示，各组间数据比较采用单因素方差分析（One-way ANOVA）。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3　结果

3.1　不同千金子脂肪油用量对4种千金子素在大鼠各肠段中吸收情况的影响

120 min的在体灌流过程中，4种千金子素在大鼠十二指肠、空肠、回肠、结肠处吸收的K_a值和P_{eff}值测定结果见表2。由表2可见，不同千金子脂肪油用量的自组装胶束均能使4种千金子素在各肠段的K_a值和P_{eff}值呈现不同程度的升高。当千金子脂肪油用量为0.4 g/L时，4种千金子素在各肠段均呈现最大吸收，且与不含脂肪油组（0 g/L，下同）比较，其P_{eff}值均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）；与不含脂肪油组比较，除千金子素L_1在十二指肠段以及千金子素L_2、L_3在空肠段中的K_a值差异无统计学意义（$P>0.05$）之外，不同千金子脂肪油用量组中4种千金子素在各肠段的K_a值均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。按不同脂肪油用量组各肠段的K_a、P_{eff}值排序：当千金子脂肪油用量为0.2 g/L时，千金子素L_1、L_2、L_3的K_a、P_{eff}值在空肠处均为最高，千金子素L_8的K_a、P_{eff}值在回肠处均为最高，4种千金子素的K_a、P_{eff}值在结肠处均为最低（除千金子素L_2的P_{eff}值在回肠处最低外）；当千金子脂肪油用量为0.4 g/L时，千金子素L_1、L_2的K_a、P_{eff}值在空肠处均为最高，千金子素L_3、L_8的K_a、P_{eff}值在回肠处均为最高，4种千金子素的K_a、P_{eff}值在结肠处均为最低（除千金子素L_1、L_2的P_{eff}值在十二指肠处为最低外）；当千金子脂肪油用量为1 g/L时，千金子素L_1、L_2、L_3的K_a、P_{eff}值在空肠处均为最高，千金子素L_8的K_a、P_{eff}值在回肠处均为最高，4种千金子素的K_a、P_{eff}值在结肠处均为最低；当千金子脂肪油用量为4 g/L时，4种千金子素的K_a、P_{eff}值在空肠处均为最高（除千金子素L_8的K_a值在回肠处最高外），在结肠处均为最低（除千金子素L_2的P_{eff}值在回肠处为最低外）。4种千金子素在各肠段的吸收效果总体上呈现空肠最好、结肠最差的趋势。

3.2　不同千金子脂肪油用量对4种千金子素在大鼠回肠段累积吸收量的影响

由表2可见，不同千金子脂肪油用量组中4种千金子素在空肠段吸收均最好；但与不含脂肪油组比较，其余脂肪油用量组中4种千金子素在空肠处的K_a值差异大部分无统计学意义（$P>0.05$），难以比较不同脂肪油用量条件下的吸收差异。因此，选择吸收较好的回肠段[与不含脂肪油组比较，其他脂肪油用量组的K_a值和P_{eff}值差异均有统计学意义（$P<0.01$）]进行累积吸收量计算。结果显示，与不含脂肪油组比较，千金子脂肪油用量为0.2～4 g/L时，4种千金子素在大鼠回肠处的累积吸收量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），且以0.4 g/L脂肪油用量组为最高，详见表3。

4　讨论

千金子素L_1、L_2、L_3、L_8均为千金二萜烷型二萜醇酯类化合物，含有多个酯键，极性较小，采用ACD/ChemSketch 10.0软件计算千4种千金子素的疏水常数分别为5.55±0.53、8.61±0.45、7.25±0.42、5.56±0.43，进一步

表2　不同用量千金子脂肪油组中4种千金子素在大鼠各肠段吸收的K_a值和P_{eff}值($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

Tab 2　K_a and P_{eff} of 4 kinds of euphorbia in each intestinal segment of rats in different amounts of Euphorbiae Semen fatty oil groups($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

肠段	不同脂肪油用量组,g/L	K_a,$\times10^{-1}$ min^{-1}				P_{eff},$\times10^{-3}$ cm/min			
		千金子素L_1	千金子素L_2	千金子素L_3	千金子素L_8	千金子素L_1	千金子素L_2	千金子素L_3	千金子素L_8
十二指肠	0	1.32±0.08	0.79±0.05	1.08±0.09	1.33±0.11	2.37±0.22	1.05±0.09	1.66±0.11	2.38±0.18
	0.2	1.39±0.20	1.09±0.14*	1.35±0.17*	1.56±0.22	2.74±0.25*	1.75±0.24**	2.81±0.37**	3.83±0.47**
	0.4	1.41±0.26	1.26±0.18**	1.45±0.23*	1.59±0.21*	2.95±0.47**	2.15±0.19**	2.95±0.38**	4.56±0.57**
	1	1.36±0.17	1.08±0.14*	1.25±0.16	1.52±0.25	2.60±0.26	1.63±0.18**	2.09±0.22*	3.73±0.50**
	4	1.35±0.15	0.93±0.10	1.20±0.14	1.46±0.19	2.52±0.35	1.26±0.09	1.93±0.24	3.04±0.33*
空肠	0	1.42±0.14	1.42±0.25	1.37±0.17	1.42±0.23	3.17±0.40	2.87±0.36	2.57±0.32	2.90±0.37
	0.2	1.68±0.24*	1.63±0.28	1.44±0.18	1.65±0.21	5.83±1.19**	4.29±0.87**	2.80±0.57	4.53±0.92**
	0.4	1.72±0.26*	1.67±0.19	1.48±0.22	1.68±0.21*	6.79±1.58**	4.58±1.07**	3.17±0.74**	4.92±1.15**
	1	1.45±0.11	1.45±0.11	1.36±0.08	1.46±0.09	5.37±1.03*	3.23±0.62*	2.78±0.53	3.47±0.67
	4	1.42±0.14	1.42±0.20	1.36±0.17	1.44±0.22	4.26±0.72*	3.18±0.54	2.61±0.44	3.27±0.56
回肠	0	1.05±0.09	0.71±0.05	0.87±0.09	1.00±0.10	1.52±0.14	0.86±0.08	1.16±0.11	1.41±0.14
	0.2	1.52±0.21**	0.94±0.14**	1.30±0.20**	1.66±0.21**	3.46±0.47**	1.36±0.22**	2.28±0.19**	5.16±0.90**
	0.4	1.56±0.24**	1.26±0.22**	1.55±0.21**	1.70±0.19**	4.16±0.57**	2.51±0.37**	4.18±0.57**	6.28±1.18**
	1	1.43±0.24**	0.88±0.15	1.28±0.22**	1.58±0.27**	2.28±0.30**	1.16±0.16*	2.27±0.19**	3.94±0.47**
	4	1.42±0.22**	0.87±0.08	1.22±0.16**	1.55±0.17**	2.20±0.22**	1.08±0.08	2.19±0.21**	2.69±0.26**
结肠	0	0.43±0.03	0.50±0.04	0.42±0.03	0.50±0.04	0.91±0.09	1.14±0.11	0.98±0.10	1.13±0.09
	0.2	0.58±0.08*	0.54±0.05	0.59±0.09*	0.64±0.10*	1.65±0.21*	1.89±0.19*	1.57±0.22*	1.92±0.19*
	0.4	0.74±0.08**	0.72±0.08*	0.60±0.09*	0.72±0.11*	3.56±0.48**	2.55±0.37**	1.68±0.21**	2.97±0.47**
	1	0.53±0.05*	0.54±0.04	0.57±0.08*	0.54±0.05	1.52±0.17*	1.16±0.15	1.22±0.16*	1.18±0.14
	4	0.50±0.05	0.50±0.04	0.46±0.06	0.51±0.04	1.55±0.23*	1.14±0.11	1.18±0.11	1.24±0.12

注：与不含脂肪油组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$

Note：vs. no fatty oil group，*$P<0.05$，**$P<0.01$

表3　不同脂肪油用量组中4种千金子素在大鼠回肠段的累积吸收量($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

Tab 3　Accumulative absorption of 4 kinds of euphorbia in ileum of rats in different amount of Euphorbiae Semen fatty oil groups($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

不同脂肪油用量组,g/L	累积吸收量,μg			
	千金子素L_1	千金子素L_2	千金子素L_3	千金子素L_8
0	86.59±7.82	57.10±6.64	71.00±7.95	80.62±8.14
0.2	125.97±15.91**	79.20±12.49**	108.15±17.02**	137.76±17.46**
0.4	128.97±17.49**	105.18±20.18**	129.00±16.77**	142.79±15.95**
1	114.30±19.26**	73.47±11.54*	102.66±17.43**	133.44±22.88**
4	102.39±19.85**	68.98±4.95	103.80±12.80**	112.65±12.43**

注：与不含脂肪油组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$

Note：vs. no fatty oil group，*$P<0.05$，**$P<0.01$

证实了这4种千金子二萜醇酯类化合物的极性非常小[12]。由此可见，这4种千金子素属于低溶解度、高渗透性的化合物，故溶解度是其在体吸收速度的关键因素。例如千金子素L_3肠吸收很差，大鼠口服给药后，超过50%的原型药物随粪便排出体外[16]。有研究证实，脂肪酸能够参与并促进胶束的形成而提高药物的溶解度，从而增加药物的体内吸收，例如硬脂酸、棕榈酸、油酸能促进淫羊藿活性黄酮自组装胶束的形成[17]，油酸及其单甘油酸酯与胆酸盐、磷脂组成的混合胶束系统能显著提高姜黄素的溶解度[18]，长链多不饱和脂肪酸负载的纳米胶束体系可促进多烯紫杉醇的肠吸收[19]等。本课题组前期研究证实，人体胃肠道中存在的胆酸盐可与千金子脂肪油在胃肠蠕动的剪切作用下形成胶束或乳滴，从而增加4种千金子素的溶解度[12]。这在一定程度上可以解释千金子脂肪油与千金子素同用增大毒性致小鼠死亡的现象。

本研究考察了不同千金子脂肪油用量的自组装胶束中4种千金子素在大鼠十二指肠、空肠、回肠、结肠等4个肠段中的K_a、P_{eff}值及其在吸收较好肠段中的累积吸收量。结果显示，当千金子脂肪油用量为0.4 g/L时，4种千金子素的肠吸收效果最好，与不含脂肪油组比较，大多数结果差异均有统计学意义，表明0.4 g/L的脂肪油对4种千金子素的增溶效果最明显。当千金子脂肪油用量为0.2、1 g/L时，对4种千金子素亦有较好的促进吸收作用，与不含脂肪油组比较其大多数结果差异也有统计学意义；但当脂肪油用量为4 g/L时，4种千金子素的K_a值和P_{eff}值虽较之于不含脂肪油组稍有升高，但大部分结果差异均无统计学意义。根据前期研究结果，笔者分析其原因可能是过量的千金子脂肪油与脱氧胆酸钠的结合率下降，导致剩余的千金子脂肪油在水溶液中析出，进而导致胶束中千金子素析出、含量下降[12]。结合前期研究和本研究结果可知，千金子脂肪油对4种千金子素的的增溶作用越明显，后者的肠吸收效果越好(即K_a值和P_{eff}值越高)。由此可见，在本试验剂量范围内，4种千金子素肠吸收速率相关常数与其在胶束中的浓度呈正相关趋势，即其肠吸收行为具有浓度依赖趋势，故推测4

种千金子素的肠吸收过程主要为被动转运。这与文献报道的千金子素L_3的肠吸收以被动转运为主[20]的结论一致。在脱氧胆酸钠和千金子脂肪油形成的胶束中，4种千金子素在大鼠空肠段吸收效果最好，在结肠段吸收效果最差，这与文献报道的千金子素L_3主要吸收部位为结肠[21]不一致，推测与两项研究中肠灌流实验的千金子素供试品溶液的溶剂组成不同有关。另对回肠累计吸收量测定后结果显示，与不含脂肪油组比较，当脂肪油用量为0.2～4 g/L时，4种千金子素的累计吸收量均显著升高，且以4 g/L用量组最高，这与K_a、P_{eff}趋势相似。

综上所述，不同用量的千金子脂肪油与脱氧胆酸盐组成的胶束能不同程度地增加千金子素L_1、L_2、L_3、L_8在大鼠各肠段的吸收量，且空肠为上述千金子素的主要吸收肠段。这可能是千金子脂肪油的存在会增加千金子毒性的原因之一。但关于千金子去油制霜的具体减毒机制还有待后续进一步研究。

参考文献

[1] 李英霞，袁敏，陈永艳，等.千金子和千金子霜及其主要成分泻下作用研究[J].中药药理与临床，2010，26(4)：40-42.

[2] BICCHI C，APPENDINO G，CORDERO C，et al. HPLC-UV and HPLC-positive-ESI-MS analysis of the diterpenoid fraction from caper spurge（Euphorbia lathyris）seed oil[J]. *Phytochemical Analysis*，2001，12(4)：255-262.

[3] 郭菲，李霞，张超，等. Fas/FasL信号通路在千金子甾醇诱导HL-60细胞凋亡中的作用与机制研究[J].国际肿瘤学杂志，2014，41(9)：679-682.

[4] ZHANG JY，ZHANG C，CHEN HB，et al. Assignments of ^{1}H and ^{13}C-NMR signals of Euphorbia factor L_1 and investigation of its anticancer activity in vitro[J]. *J Med Plants Res*，2010，4(4)：335-338.

[5] JIAO W，DONG W，LI Z，et al. Lathyrane diterpenes from Euphorbia lathyris as modulators of multidrug resistance and their crystal structures[J]. *Bioorg Med Chem*，2009，17(13)：4786-4792.

[6] ZHANG JY，LIN MT，YI T，et al. Apoptosis sensitization by Euphorbia factor L_1 in ABCB1-mediated multidrug resistant K562/ADR cells[J]. *Molecules*，2013，18(10)：12793-12808.

[7] 窦志华，丁安伟.大戟属有毒中药毒性成分及炮制减毒研究进展[C]//中华中医药学会第六届中药炮制学术会议论文集.淄博：中华中医药学会中药炮制分会，2006：226-232.

[8] 郑飞龙.千金子毒性成分的研究[D].南昌：南昌大学，2009.

[9] 龚千锋.中药炮制学[M].北京：中国中医药出版社，2012：390-394.

[10] 李英霞，袁敏，陈永艳，等. HPLC测定千金子和千金子霜中两种泻下成分的含量[J].中成药，2010，32(3)：440-443.

[11] 孙付军，宋卫国，李英霞.千金子及不同含油量千金子霜急性毒性比较[J].中国药物警戒，2011，8(1)：20-22.

[12] 苏彤，袁芮，张超，等.基于体内自组装胶束思维分析千金子脂肪油对4种千金子素的增溶作用[J].中国实验方剂学杂志，2019，25(7)：160-164.

[13] 朱娟娟，王英姿，张超，等.千金子石油醚萃取物中油脂成分的GC-MS分析[J].山东中医药大学学报，2013，37(5)：439-441.

[14] 张超，朱娟娟，王英姿，等. HPLC法测定千金子不同极性部位中二萜酯类化合物含量[J].山东中医药大学学报，2014，38(5)：485-488.

[15] 喻樊，汤新慧，周姝婷.在体单向肠灌流模型研究绞股蓝皂苷的肠吸收特性[J].中国医院药学杂志，2017，37(12)：1129-1133.

[16] MENG X，ZHAO X，LONG ZM，et al. A sensitive liquid chromatography-mass spectrometry method for simultaneous determination of three diterpenoid esters from Euphorbia lathyris L. in rat plasma[J]. *J Pharm Biomed Anal*，2013，72(1)：299-305.

[17] 李杰，孙娥，张振海，等.羊脂油对淫羊藿活性黄酮自组装胶束模拟形成的影响[J].中国中药杂志，2014，39(17)：3278-3282.

[18] 张琼，李林，魏东芝，等.胆酸盐/脂类混合胶束对疏水性姜黄素的增溶性能[J].华东理工大学学报（自然科学版），2010，36(5)：639-644.

[19] KHURANA RK，BEG S，BURROW AJ，et al. Enhancing biopharmaceutical performance of an anticancer drug by long chain PUFA based self-nanoemulsifying lipidic nanomicellar systems[J]. *Eur J Pharm Biopharm*，2017. DOI：10.1016/j.ejpb.2017.09.001.

[20] 段飞鹏，王英姿，李韶菁，等.千金子甾醇在Caco-2细胞单层模型中的吸收研究[J].中草药，2014，45(21)：3136-3140.

[21] 张秀婷，王英姿，李韶菁，等.在体单向肠灌流模型研究千金子甾醇在大鼠肠吸收特性[J].北京中医药大学学报，2015，38(9)：624-627.

（收稿日期：2019-07-04　修回日期：2020-01-05）

（编辑：段思怡）