

## 基于药物吸收仿生系统的经典名方当归补血汤 多指标成分肠吸收特征考察

张佳, 高媛, 周湘杰, 高武锋, 周悦, 马丽霞, 庄欣雅, 董洁, 顾薇, 严国俊\*  
(南京中医药大学药学院, 江苏省中医外用开发与应用工程研究中心,  
江苏省经典名方工程研究中心, 南京 210023)

**[摘要]** 目的:利用外翻肠囊模型建立的药物吸收仿生系统(DASS)考察当归补血汤多指标成分的肠吸收特征。方法:收集当归补血汤给药后不同时间点的肠吸收液,采用高效液相色谱法(HPLC)检测,以乙腈(A)-0.2%冰乙酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~16 min, 15%~23%A; 16~20 min, 23%~28%A; 20~25 min, 28%~30%A; 25~30 min, 30%A; 30~35 min, 30%~65%A; 35~45 min, 65%~95%A),检测波长302 nm,建立肠吸收液的HPLC指纹图谱并标定共有峰,计算各指标成分的相对累积吸收率,利用DDSolver 1.0软件对各成分相对累积吸收曲线进行模型拟合,探究不同成分的吸收规律。结果:当归补血汤中成分C2(毛蕊异黄酮葡萄糖苷)和C6的吸收过程较符合零级方程,C9成分以Weibull方程拟合最佳,其余7个成分则更符合Makoid-Banakar方程。成分C1与C2、C3、C5、C7、C10,C2与C5、C7,C3与C4、C5、C7、C10,C4与C6、C10,C5与C7,C6与C10,C7与C10,C8与C9在吸收过程中为同步吸收。随着时间的延长,当归补血汤的整体相对累积吸收率随之增加,120 min时,当归补血汤的整体相对累积吸收率>38%,至180 min时已达49.14%。结论:当归补血汤中的10个指标成分在空肠中均有吸收,但各成分的吸收规律并不一致,表明中药复方制剂的肠吸收具有多元特征,以化学成分为指标的中药复方制剂肠吸收研究能揭示其部分吸收规律,但用于表征复方制剂整体吸收特征的指标还需进一步探究。

**[关键词]** 药物吸收仿生系统(DASS); 当归补血汤; 肠吸收; 高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱; 累积吸收率; 模型拟合; 经典名方

[中图分类号] R22;R28;R289;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)16-0188-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220449

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220411.1352.001.html>

[网络出版日期] 2022-04-12 13:26

### Investigation of Intestinal Absorption Characteristics of Multi-index Components of Danggui Buxuetang Based on Drug Absorption Simulating System

ZHANG Jia, GAO Yuan, ZHOU Xiangjie, GAO Wufeng, ZHOU Yue, MA Lixia,  
ZHUANG Xinya, DONG Jie, GU Wei, YAN Guojun\*

(School of Pharmacy, Jiangsu Provincial Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine External Medication Development and Application, Jiangsu Provincial Engineering Research Center of Classical Formula, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the intestinal absorption characteristics of multi-index components in Danggui Buxuetang with drug absorption simulating system (DASS) established by everted intestinal sac model. **Method:** The intestinal absorption solution at different time points after administration of Danggui Buxuetang was collected and detected by high performance liquid chromatography (HPLC), acetonitrile (A)-

[收稿日期] 2022-03-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82074004,81773910);国家重点研发计划项目(2019YFC1710603);2020年度江苏省高校“青蓝工程”项目;2021年江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX21\_1789)

[第一作者] 张佳,在读硕士,从事中药药剂学研究,E-mail:20200607@njucm.edu.cn

[通信作者] \*严国俊,教授,博士生导师,从事中药饮片及制剂品质传递过程及评价方法研究,E-mail:yanguojun@njucm.edu.cn

0.2% glacial acetic acid solution (B) was used as the mobile phase for gradient elution (0-16 min, 15%-23%A; 16-20 min, 23%-28%A; 20-25 min, 28%-30%A; 25-30 min, 30%A; 30-35 min, 30%-65%A; 35-45 min, 65%-95%A), the detection wavelength was 302 nm. HPLC fingerprint of intestinal absorption solution was established and the common peak was calibrated, and the relative cumulative absorption rate of each index component was calculated. The relative cumulative absorption curves of components were fitted with various mathematical models by DDSolver 1.0 to explore the absorption law of different components. **Result:** The absorption process of C2 (calycosin-7-glucoside) and C6 in Danggui Buxuetang was in line with zero-order equation, C9 was best fitted by Weibull equation, and the remaining 7 components were in line with Makoid-Banakar equation. C1 with C2, C3, C5, C7 and C10, C2 with C5 and C7, C3 with C4, C5, C7 and C10, C4 with C6 and C10, C5 with C7, C6 with C10, C7 with C10, C8 with C9 were absorbed simultaneously during the absorption process. With the prolongation of time, the overall cumulative absorption rate of Danggui Buxuetang increased. At 120 min, the overall cumulative absorption rate of Danggui Buxuetang exceeded 38%, and reached 49.14% at 180 min. **Conclusion:** Ten ingredients in Danggui Buxuetang are absorbed in the jejunum, but absorption law of various components is different, which shows that the intestinal absorption of compound preparations of traditional Chinese medicine (TCM) has multiple characteristics. Intestinal absorption study of TCM compound preparations with chemical composition as the index can reveal some of its absorption law, but it is not complete.

**[Keywords]** drug absorption simulating system (DASS); Danggui Buxuetang; intestinal absorption; high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint; cumulative absorption rate; model fitting; famous classical formulas

中药复方制剂组分复杂,通过分析肠吸收液中的已知化学成分,可以快速、有效确定中药复方制剂的药效成分或药效前体成分。但仅对复方制剂中部分已知成分进行吸收特征研究,并不能完全反映复方整体吸收规律,深入研究中药复方制剂体外肠吸收过程,需进一步结合其他未知成分,从整体出发,对中药复方制剂的吸收规律加以完善。口服给药是最常见的临床给药途径,药物口服后经过胃肠道上皮细胞进入血液,再通过血液循环向体内各个组织器官分布,进而在特定作用部位发挥疗效,因此胃肠道吸收是药物产生疗效的前提和关键<sup>[1]</sup>。药物吸收仿生系统(DASS)<sup>[2]</sup>是目前较为常用的一种药物基于肠道吸收建立的体外仿生系统,减少了药物吸收的影响,常以Caco-2细胞、肠管<sup>[3-4]</sup>或人工渗透膜<sup>[5]</sup>为仿生介质模拟肠道黏膜分析药物在肠道的吸收特征,已用于中药单体、单味中药和中药复方制剂的有效成分吸收规律或相互作用研究<sup>[6]</sup>。当归补血汤出自金元时期李东垣所著的《内外伤辨惑论·暑伤胃气论》,是益气生血的经典名方,由黄芪和当归2味药按5:1比例组成。该方重用黄芪大补脾肺之气,与当归合用,养血合营,互相配伍,多用于治疗劳伤血虚、肌热面赤、产后血虚等病证<sup>[7-9]</sup>。

近年来,当归补血汤的研究主要集中在质量控

制、作用机制等方面<sup>[10-11]</sup>,而有关该复方吸收特征的研究较少。因此,本研究基于外翻肠囊模型建立DASS,采用高效液相色谱法(HPLC)建立当归补血汤肠吸收液中各成分的指纹图谱,并通过相似度评价系统选取了该复方的10个吸收共有峰为考察对象(包括已知成分和未知成分),进行多指标成分的体外肠吸收特征分析,拟从整体角度揭示当归补血汤在模拟体内吸收条件下品质传递与吸收的规律<sup>[12]</sup>,为开展该经典名方的肠吸收液体外活性评价及复方制剂研发提供参考。

## 1 材料

e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司), Allegra X-30R型高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特公司), MZY-U20V型超纯水机(南京妙之仪电子科技有限公司), F2-Standard型便携式pH计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], FA1004型1/1万分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司), FA1104N型1/1万电子分析天平(上海菁海仪器有限公司), PT-124/85S型1/10万电子分析天平[华志(福建)电子科技有限公司], YSK-3AW型医用分子筛制氧机(安徽皖舒医疗设备有限公司)。

乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号20210107),阿魏酸、毛蕊异黄酮

葡萄糖苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110773-201915、111920-201907,纯度分别为99.4%、96.8%),藁本内酯对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号RFS-G01001909023,纯度>98%),实验用水为超纯水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。黄芪和当归药材均购于临洮县新征程农业专业合作社,产自甘肃岷县,经南京中医药大学中药鉴定学教研室周婧副教授鉴定,分别为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根,均符合2020年版《中华人民共和国药典》(一部)相关项下规定。根据前期研究建立的饮片炮制方法,黄芪药材去除杂质后,大小分开,洗净,润透,切成2 mm左右厚片,干燥,得黄芪饮片;当归药材去除杂质后,用清水润透,切成1~2 mm的薄片,置烘箱45 °C干燥3 h,取出放冷后加入黄酒闷润(每100 kg当归饮片用黄酒20 kg),于50 °C干燥2 h,得酒洗当归饮片。

SPF级健康雄性SD大鼠,体质量(250±10) g,由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,合格证号SCXK(浙)2019-0002。本实验已通过南京中医药大学动物伦理审核,批准号202104A007,动物饲养于SPF级环境中,温度22~24 °C,相对湿度45%~55%,明暗交替12 h,实验期间动物自由摄食饮水。

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 空白人工肠液<sup>[13]</sup>** 取磷酸二氢钾6.8 g,加水500 mL溶解,用0.1 mol·L<sup>-1</sup>氢氧化钠溶液调pH 6.8。

**2.1.2 混合对照品溶液** 精密称取阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藁本内酯对照品适量,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成每1 mL分别含1.07、0.98、1.02 mg的混合对照品储备液,置冰箱4 °C保存,备用。

**2.1.3 当归补血汤** 参照《内外伤辨惑论》当归补血汤原文记载,结合历史和现代文献考证,确定该方剂量为黄芪40 g、酒洗当归8 g。按处方比例称取饮片共48 g,置砂锅中,加水400 mL,武火煮沸后转文火煮至200 mL,纱布滤过,放冷,备用。实验前需放入37 °C水浴锅预热5 min。

**2.2 大鼠离体外翻肠囊模型的建立<sup>[14-15]</sup>** 大鼠实验前禁食不禁水12 h。大鼠处死后沿腹中线迅速剪开腹部,取出肠段10 cm(十二指肠,自胃幽门1 cm至下10 cm;空肠,自胃幽门15 cm至下10 cm;回肠,自盲肠上端20 cm至下10 cm),放入空白人工肠液

中冲洗至无内容物流出,小心剥离肠段表面的肠系膜和脂肪。将洗净肠段用玻璃棒小心外翻,翻转后将肠段一端用手术线扎紧,另一端固定于自制套管中并用手术线扎紧,使之形成囊状肠管。用37 °C的空白人工肠液冲洗肠段表面,在肠囊内注入37 °C、预热5 min的空白人工肠液2 mL,注入后若无漏液则将肠段放入含有供试药液的自制试管中,整个装置置于37 °C水浴中。实验过程中不断向装置中通入混合气体[CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>(5:95)],并保持37 °C恒温水浴。具体装置见图1。

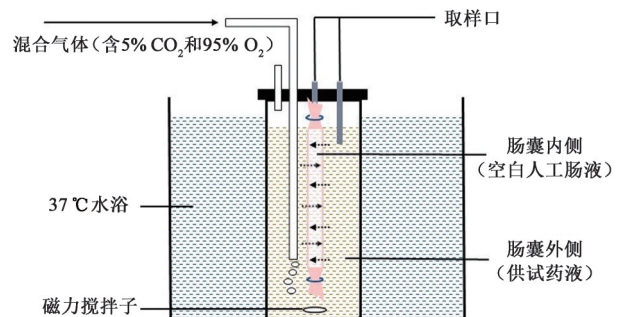


图1 外翻肠囊实验示意

Fig. 1 Schematic diagram of everted intestinal sac experiment

**2.3 肠细胞活性评价** 肠细胞受损时会迅速释放大量的LDH,采用酶标法于450 nm处测定吸光度A来检测单位面积内肠段所释放的LDH活力,从而对肠活性进行评价。按照2.2项下建立的外翻肠囊模型,分别向十二指肠、空肠、回肠内注入空白人工肠液2 mL,放入已加入供试药液(空白人工肠液)的自制试管中,在0、60、120、150、180 min各时间点分别收集肠内吸收液样品,取样的同时在肠囊内侧补充等体积37 °C的空白人工肠液。按照LDH测定试剂盒说明书进行检测,计算各样品的LDH活性。实验结束后测量被考察肠段的长度(L)和内径(r),计算其吸收面积(S)。

**2.4 当归补血汤肠吸收液样品的制备** 按照2.2项下建立的外翻肠囊模型,自肠段放入含有供试药液(当归补血汤)的自制试管中开始计时,分别在0、15、30、60、90、120、150、180 min于肠囊内外侧各取样200 μL,取样的同时在肠囊内外侧对应补充等体积37 °C的空白人工肠液和供试药液。

**2.5 样品处理** 将2.4项下样品溶液放入干净的离心管,于25 °C、8 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min(离心半径6.6 cm),精密量取适量上清液,加入一定量甲醇[样品溶液-甲醇(3:7)],混匀,用0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,待测。

**2.6 色谱条件** Hedera ODS-2 色谱柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.2%冰乙酸溶液(B)梯度洗脱(0~16 min, 15%~23%A; 16~20 min, 23%~28%A; 20~25 min, 28%~30%A; 25~30 min, 30%A; 30~35 min, 30%~65%A; 35~45 min, 65%~95%A), 检测波长 302 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。

**2.7 方法学考察**

**2.7.1 精密度试验** 取适量当归补血汤肠吸收液(180 min时样品), 按 2.5 项下方法处理, 照 2.6 项下色谱条件连续进样 6 次。记录色谱图, 以阿魏酸(C4)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间、相对峰面积的相对标准偏差(RSD)。

**2.7.2 稳定性试验** 取适量当归补血汤肠吸收液(180 min时样品), 按照 2.5 项下方法处理, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 按 2.6 项下色谱条件测定, 记录色谱图, 以 C4 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD。

**2.7.3 重复性试验** 取适量当归补血汤肠吸收液(180 min时样品) 6 份, 按 2.5 项下方法处理, 照 2.6 项下条件测定, 以 C4 为参照峰, 记录色谱图, 计算各共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD。

**2.8 数据分析** 根据公式计算  $S=2\pi r \times L$  计算肠吸收表面积(cm<sup>2</sup>)。根据公式  $LDH \text{ 活性} = (A - A_s) / (A_r - A_0) \times C_r \times 1000 / S$  计算 LDH 活性(U·L<sup>-1</sup>·cm<sup>-2</sup>), 式中 A 为样品孔的吸光度, A<sub>s</sub> 为对照孔的吸光度, A<sub>r</sub> 为标准孔的吸光度, A<sub>0</sub> 为空白孔的吸光度, C<sub>r</sub> 为标准液的浓度(μmol·mL<sup>-1</sup>)。根据成分累积吸收量(Q, μg)的公式(1), 按公式(2)以各成分峰面积换算得出相应成分的相对累积吸收率(CAR, %)。

$$Q = 0.2C_n \times \frac{V_0}{V} + 0.2 \sum_{i=1}^{n-1} C_i \quad (1)$$

$$CAR = (0.2C_n \times \frac{V_0}{V} + 0.2 \sum_{i=1}^{n-1} C_i) / (V_0 \times C_{m0}) = (0.2A_n \times \frac{V_0}{V} + 0.2 \sum_{i=1}^{n-1} A_i) / (V_0 \times A_{m0}) \times 100\% \quad (2)$$

式中 A<sub>n</sub>、C<sub>n</sub> 分别为肠吸收液中某成分各时间点的峰面积及实测质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>), A<sub>m0</sub>、C<sub>m0</sub> 分别为当归补血汤中某成分 m 在 0 min 时的峰面积及实测质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>), V<sub>0</sub> 为平衡前加入肠段中的空白人工肠液体积(mL), V 为每次取样的体积(mL)。按公式(3)计算相似因子(f<sub>2</sub>), 式中 CAR<sub>1</sub> 和 CAR<sub>2</sub> 分别代表指标成分和其他成分在时间 t 的相对累积吸收率, n 为时间点的个数。采用 SPSS 22.0 进行数据分析, 实验结果用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组比较采用方差分

析, 两组比较采用独立样本 t 检验进行组间比较, P < 0.05 表示差异有统计学意义。

$$f_2 = 50 \times \lg \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (CAR_1 - CAR_2)^2 \right]^{0.5} \times 100 \right\} \quad (3)$$

**3 结果**

**3.1 外翻肠囊模型肠细胞活性评价** 与 0 min 时 LDH 活性比较, 十二指肠、空肠、回肠在 60、120、150、180 min 时的 LDH 活性差异无统计学意义, 表明各肠段在本实验装置下未出现大批肠道细胞受损的情况, 180 min 内基本可以保持肠黏膜的活性。与空肠 0 min 时比较, 十二指肠、回肠在 0 min 的 LDH 活性显著升高(P < 0.01), 说明各肠段活性存在一定差异。考虑到空肠 180 min 内的 LDH 活性整体相对较低, 结合实际操作, 故选取空肠作为目标肠段, 确定 180 min 为最终检测时间点。相关实验数据见表 1。

表 1 不同时间点单位面积肠段释放 LDH 的活性检测( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Detection of LDH activity per unit area of intestinal segment at different time points ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

t/min	LDH 活性/U·L <sup>-1</sup> ·cm <sup>-2</sup>		
	十二指肠	空肠	回肠
0	73.26±4.50 <sup>1)</sup>	48.16±5.10	84.87±4.79 <sup>1)</sup>
60	68.39±8.14	48.65±2.55	80.78±5.70
120	68.72±1.25	46.79±3.76	81.55±0.53
150	67.30±11.02	45.28±1.57	76.66±13.62
180	65.41±6.12	49.51±3.32	80.33±4.43

注: 与空肠 0 min 比较<sup>1)</sup> P < 0.01

**3.2 方法学考察**

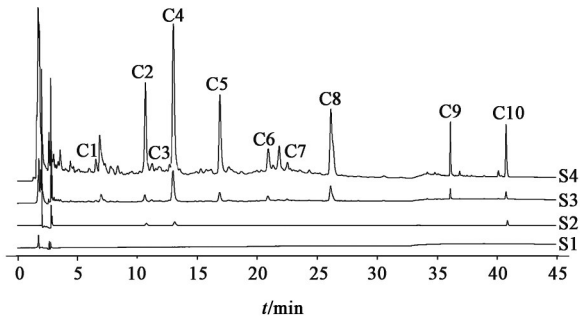
**3.2.1 精密度试验** 各指标成分色谱峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.1%, 相对峰面积的 RSD 均 < 4.1%, 表明仪器精密度良好, 符合生物样品分析要求。

**3.2.2 稳定性试验** 各指标成分色谱峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.2%, 相对峰面积的 RSD 均 < 4.6%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好, 符合生物样品分析要求。

**3.2.3 重复性试验** 各指标成分色谱峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.1%, 相对峰面积的 RSD 均 < 5.8%, 表明该方法重复性良好, 符合生物样品分析要求。

**3.3 指标成分的选择** 根据 2.5 项下方法处理空白人工肠液、当归补血汤及其肠吸收液(180 min 时样品), 按 2.6 项下色谱条件测定, 将样品色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)进行分析, 结果发现有 10 个共有峰, 且空白人工肠液对这 10 个成分的吸收无干扰, 确定这 10 个成分可

通过肠壁吸收,色谱峰编号依次为C1~C10,作为分析指标。通过与混合对照品溶液色谱图比对,指出了3个成分,分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷(C2)、阿魏酸(C4)、藁本内酯(C10),见图2。



注:S1.空白人工肠液;S2.混合对照品;S3.当归补血汤肠吸收液;S4.当归补血汤;C2.毛蕊异黄酮葡萄糖苷;C4.阿魏酸;C10.藁本内酯

图2 不同样品的HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of different samples

表2 当归补血汤中10个成分在空肠中的相对累积吸收率( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Relative cumulative absorption rate of ten components from Danggui Buxuetang in jejunum ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

成分	CAR/%							
	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
C1	-	-	-	-	12.86±5.21	21.27±0.76	27.71±5.70	34.84±7.76
C2	-	2.09±1.14	4.06±2.26	3.63±0.78	9.65±2.46	13.14±1.90	16.83±0.82	18.35±3.50
C3	-	-	-	-	23.85±5.45	33.88±0.76	42.57±8.93	45.52±0.86
C4	-	2.42±1.90	7.27±0.66	13.95±1.77	27.81±2.05	40.16±0.23	49.82±6.19	53.57±1.92
C5	-	1.12±0.10	3.86±0.16	4.34±1.07	12.04±0.98	17.54±0.11	23.74±4.56	26.33±0.63
C6	-	-	15.23±0.75	14.31±2.27	29.01±3.13	41.03±2.49	51.39±7.14	55.59±2.33
C7	-	-	-	-	13.45±0.01	21.97±2.79	31.24±1.35	25.69±3.87
C8	-	-	8.28±2.88	16.05±1.40	48.05±3.82	86.93±0.57	88.98±3.45	94.01±0.15
C9	-	-	13.90±0.88	12.23±0.71	49.97±0.82	80.35±1.82	81.02±0.56	91.42±2.83
C10	-	1.96±0.39	4.93±0.30	8.52±0.89	19.73±0.45	31.66±0.38	39.57±4.23	46.13±5.74

**3.4.2 CAR-t曲线拟合方程** 采用DDSolver 1.0软件对各成分的吸收趋势进行数学模型拟合运算。以零级方程、一级方程、Weibull方程、Korsmeyer-Peppas方程、Makoid-Banakar方程分别对各成分相对累积吸收曲线进行拟合,筛选出最符合成分吸收趋势的拟合方程,分析各成分吸收规律的异同。赤池信息量准则(AIC)越小,模型选择标准(MSC)越大,校正拟合系数( $R_{adj}$ )越接近1,拟合效果越好。由表3可知,成分C1、C3、C4、C5、C7、C8、C10用Makoid-Banakar方程拟合最佳,成分C9适合Weibull方程,成分C2、C6则更符合零级方程,说明当归补血汤中各指标成分的累积吸收趋势不一。

**3.4.3 相似度评价**  $f_2$ 法可用于考察1个处方中多

### 3.4 各成分在空肠的吸收规律分析

**3.4.1 吸收时间及CAR的比较** 由表2可知,10个指标成分开始被吸收的时间点各不相同,成分C2、C4、C5及C10在前15 min内被空肠吸收,吸收较快;成分C6、C8、C9在15~30 min被吸收;成分C1、C3、C7则在60~90 min内被吸收。总体而言,10个指标成分在60~90 min均能被吸收。同时,10个指标性成分的CAR也不太一致,成分C8及C9可在90 min内达48%以上,120 min时已达80%以上,被充分吸收;成分C4和C6则在120 min内达40%以上,在180 min时超过53%;成分C3在150 min时达42.57%;成分C10在180 min时达46.13%;其余成分在180 min内的CAR则始终<35%,说明其吸收较少。成分C1~C10在各时间点(15、30、60、90、120、150、180 min)的平均CAR分别为0.76%、5.75%、7.30%、24.64%、38.79%、45.29%、49.14%。

个成分在吸收时是否同步吸收,可以测定某一时间2个成分的吸收百分比,若 $f_2 \geq 50$ 便可认为2个成分在吸收过程中为同步吸收<sup>[16]</sup>。采用DDSolver 1.0计算2个成分吸收曲线间的 $f_2$ ,以考察二者相似性,见表4。结果发现成分C1与C2、C3、C5、C7、C10的 $f_2$ 均>50,表明这6个成分在空肠段实现了同步吸收。同理,成分C2与C5、C7、C3与C4、C5、C7、C10, C4与C6、C10, C5与C7, C6与C10, C7与C10, C8与C9亦为同步吸收,进一步说明当归补血汤中10个指标成分的吸收趋势并不完全一致。

## 4 讨论

本文研究结果显示,当归补血汤的10个指标成分在空肠处皆有吸收,且随着时间的延长,各成分

表3 当归补血汤中各指标成分相对累积吸收曲线的拟合方程

Table 3 Mathematical fitting equations of relative cumulative absorption curve of each component in Danggui Buxuetang

成分	模型	拟合方程	$R_{adj}$	AIC	MSC
C1	零级	$CAR=0.172t$	0.884 2	42.881 9	1.381 1
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.002t})$	0.856 1	44.621 2	1.163 7
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.943}/53\ 266.834)]$	0.965 7	33.920 1	2.501 4
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.005t^{1.714}$	0.959 2	35.303 4	2.328 5
	Makoid-Banakar	$CAR=3.72 \times 10^{-8} t^{4.815} \times e^{-0.024t}$	0.982 4	29.113 3	3.102 2
C2	零级	$CAR=0.105t$	0.971 0	20.454 0	3.057 2
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.001t})$	0.968 3	21.159 4	2.969 0
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.114}/1\ 531.430)]$	0.967 1	22.222 5	2.836 1
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.084t^{1.045}$	0.966 8	22.286 2	2.828 2
	Makoid-Banakar	$CAR=0.053t^{1.174} \times e^{-0.001t}$	0.960 5	24.220 5	2.586 4
C3	零级	$CAR=0.253t$	0.885 4	48.570 1	1.315 3
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.003t})$	0.853 4	50.540 7	1.069 0
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.748}/12\ 425.668)]$	0.927 4	45.682 1	1.676 3
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.030t^{1.430}$	0.911 6	47.260 8	1.479 0
	Makoid-Banakar	$CAR=6.62 \times 10^{-9} t^{5.507} \times e^{-0.033t}$	0.973 2	38.237 3	2.606 9
C4	零级	$CAR=0.311t$	0.982 9	34.121 5	3.614 9
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.004t})$	0.963 1	40.260 2	2.847 5
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.372}/1\ 493.634)]$	0.990 4	30.257 4	4.097 9
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.202t^{1.087}$	0.982 8	34.940 3	3.512 5
	Makoid-Banakar	$CAR=0.005t^{2.097} \times e^{-0.009t}$	0.994 1	26.942 6	4.512 2
C5	零级	$CAR=0.145t$	0.966 3	27.879 9	2.962 6
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.002t})$	0.954 0	30.379 0	2.650 2
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.382}/4\ 038.310)]$	0.981 1	24.035 1	3.443 2
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.041t^{1.256}$	0.979 0	24.882 5	3.337 3
	Makoid-Banakar	$CAR=0.001t^{2.286} \times e^{-0.009t}$	0.981 9	24.206 0	3.421 8
C6	零级	$CAR=0.323t$	0.970 2	38.856 8	2.756 8
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.004t})$	0.956 1	41.944 2	2.370 9
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.275}/882.230)]$	0.968 1	40.167 6	2.593 0
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.305t^{1.012}$	0.965 3	40.844 6	2.508 4
	Makoid-Banakar	$CAR=0.090t^{1.354} \times e^{-0.003t}$	0.961 7	42.171 9	2.342 5
C7	零级	$CAR=0.160t$	0.844 7	44.045 0	1.046 2
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.002t})$	0.830 1	44.764 0	0.956 4
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.557}/8\ 467.036)]$	0.866 9	43.576 0	1.104 9
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.024t^{1.381}$	0.855 6	44.228 3	1.023 3
	Makoid-Banakar	$CAR=5.13 \times 10^{-12} t^{7.283} \times e^{-0.047t}$	0.980 6	28.697 5	2.964 7
C8	零级	$CAR=0.563t$	0.925 5	56.561 7	1.993 9
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.009t})$	0.841 0	62.626 9	1.235 7
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{3.045}/1\ 289\ 570.220)]$	0.984 6	44.726 0	3.473 3
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.256t^{1.159}$	0.921 5	57.745 3	1.845 9
	Makoid-Banakar	$CAR=3.66 \times 10^{-7} t^{4.766} \times e^{-0.030t}$	0.984 9	45.081 3	3.428 9
C9	零级	$CAR=0.535t$	0.929 7	54.987 4	2.024 5
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.009t})$	0.858 1	60.600 6	1.322 8
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{2.295}/47\ 029.975)]$	0.963 6	50.477 4	2.588 2
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.279t^{1.132}$	0.923 8	56.396 3	1.848 4
	Makoid-Banakar	$CAR=0.000\ 005\ 36t^{4.050} \times e^{-0.024t}$	0.963 2	51.114 1	2.508 6
C10	零级	$CAR=0.250t$	0.970 3	35.728 9	3.091 6
	一级	$CAR=100 \times (1 - e^{-0.003t})$	0.942 8	40.968 4	2.436 7
	Weibull	$CAR=100 \times [1 - \exp(-t^{1.536}/4\ 494.060)]$	0.991 2	26.798 0	4.208 0
	Korsmeyer-Peppas	$CAR=0.063t^{1.279}$	0.986 7	30.047 9	3.801 8
	Makoid-Banakar	$CAR=0.001t^{2.381} \times e^{-0.009t}$	0.992 8	25.702 9	4.344 9

表4 当归补血汤各成分相对累积吸收曲线的相似因子

Table 4 Similarity factor values of relative cumulative absorption curves of various components in Danggui Buxuetang

成分	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
C1	-									
C2	54.917	-								
C3	52.712	39.650	-							
C4	41.936	33.934	56.654	-						
C5	68.487	68.467	51.427	38.553	-					
C6	39.586	32.565	45.845	74.203	36.799	-				
C7	72.058	57.628	50.281	40.495	70.475	38.303	-			
C8	19.612	16.174	24.681	28.517	18.091	29.231	19.118	-		
C9	21.286	17.620	26.801	31.070	19.666	32.096	20.698	66.735	-	
C10	54.431	41.403	68.921	59.252	48.385	53.973	51.015	24.124	26.202	-

的CAR整体趋势几乎一致。但通过统计分析后发现这10个成分并不是整体同步吸收,吸收速度有快有慢,各成分在同一时间点的CAR也存在较大差异,说明空肠对当归补血汤各成分的吸收具有选择性,并不是简单的半透膜渗透过程。另外,在实验过程中发现,当归补血汤中部分成分在肠吸收液中含有量较低,前几个时间点采用HPLC未能检测到,因此体内入血成分研究时建议取血点选择90 min后较为合适。

胃肠道吸收是口服给药制剂最主要的吸收途径,也是其产生疗效的重要前提,很大程度上决定了药物的生物利用度,因此了解药物口服后的体内吸收过程对研究口服药物的吸收特征具有重要指导意义<sup>[17]</sup>。目前用于体内成分吸收的研究方法大多较为繁琐,而DASS可在体外模拟体内生理状态下肠段对药物的吸收情况,避免了血液等因素的影响,更能反映药物在肠黏膜处的吸收效用,因而被广泛用于中药肠吸收规律的考察<sup>[18-19]</sup>。对于组分复杂的中药复方制剂,目前研究多通过分析肠吸收液中的已知化学成分,进而快速、有效地确定中药复方制剂的药效成分或药效前体成分。但仅凭单一或者多个化学成分的吸收特征并不能全面反映中药复方制剂的整体吸收规律,仍需结合其他未知成分,从整体出发对中药复方制剂的吸收规律加以研判。

综上所述,本实验选用了外翻肠囊模型建立DASS,同时结合HPLC,在保证大鼠肠段活性的情况下,最大化探讨当归补血汤多指标成分在空肠中整体吸收规律<sup>[20-21]</sup>。采用HPLC建立了经典名方当归补血汤肠吸收液中各成分的指纹图谱,并通过相

似度评价确定了10个共有峰,共有峰峰面积占比85%以上,能较好地代表当归补血汤肠吸收情况。此外,本文使用各成分的峰面积计算CAR,利用指纹图谱的整体性,进一步弥补了以单一化学成分为指标揭示中药复方制剂肠吸收规律的局限性,可为经典名方制剂的研发提供有益借鉴。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 王文祥,苏锦松,于猛,等. 外翻肠囊法研究藏族药翼首草肠吸收成分及其吸收特征[J]. 中国中药杂志, 2019,44(15):3170-3177.

[2] KOBAYASHI M, SADA N, SUGAWARA M, et al. Development of a new system for prediction of drug absorption that takes into account drug dissolution and pH change in the gastro-intestinal tract [J]. Int J Pharm, 2001, 221(1/2):87-94.

[3] 徐雪芳,李超,王洋洋,等. 药物溶出/吸收仿生系统法研究异欧前胡素溶出特征及与体内药代动力学相关性分析[J]. 锦州医科大学学报, 2018,39(4):1-4, 8,113-114.

[4] 李自强,刘志东,顾慧,等. 药物溶出/吸收仿生系统研究丹酚酸B缓释片释放规律[J]. 药物评价研究, 2010,33(5):367-373.

[5] 王洋洋,黄聪,王彩君,等. 基于平行人工膜渗透分析法对药物溶出/吸收仿生系统优化及其药物渗透性评价研究[J]. 药物评价研究, 2019,42(8):1544-1550.

[6] 何帅,蔺明焯,姜亦南,等. 中药成分肠吸收模型研究进展与思考[J]. 中医药学报, 2018,46(3):121-124.

[7] 靳贺超,强家维,张冠文,等. 当归补血汤通过改善足细胞线粒体功能障碍减轻糖尿病肾病大鼠氧化应激及炎症反应[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022,28(3): 31-40.

- [ 8 ] 秦臻,黄水清,韦正新,等. 剪切应力环境中当归补血汤对大鼠内皮祖细胞功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(2):1-7.
- [ 9 ] 郭静,莫友胜,王奇,等. 当归补血汤对内皮祖细胞氧化应激损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(20):39-45.
- [10] 杨飞霞,王玉,夏鹏飞,等. 当归补血汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志,2021,46(11):2677-2685.
- [11] 靳如娜,齐晓甜,孙蓉,等. 经典名方当归补血汤的药效物质基础和质控研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(16):220-228.
- [12] 张佳,杨怀瑾,马丽霞,等. 中药品质传递过程评价技术与方法研究进展[J]. 中草药,2021,52(15):4711-4721.
- [13] 马晓斐,王建春,潘金火,等. 基于细胞生物电传感效应的复方丹参片溶出动力学研究[J]. 中草药,2019,50(17):4131-4137.
- [14] 刘春花,王明金,杨淑婷,等. 基于外翻肠囊模型研究荳蔻提取物在正常和心肌缺血模型大鼠中的肠吸收特征[J]. 中国中药杂志,2021,46(1):196-205.
- [15] GUO J, PING Q, JIANG G, et al. Transport of leuprolide across rat intestine, rabbit intestine and Caco-2 cell monolayer[J]. Int J Pharm, 2004, 278(2): 415-422.
- [16] 刘畅,周学海,缪子敬,等. 非模型依赖多变量置信区间法用于药品体外溶出评价的探讨[J]. 药物评价研究,2018,41(5):816-820.
- [17] 赵洁,徐雪林,易红,等. 外翻肠囊法研究丹参水提物在大鼠肠内的吸收[J]. 中国中药杂志,2015,40(15):3088-3093.
- [18] 滕爽,邱玲,陈红鸽,等. 外翻肠囊法研究芍药苷脂质液晶纳米粒肠吸收特性[J]. 中国中药杂志,2016,41(19):3674-3678.
- [19] BARTHE L, BESSOUET M, WOODLEY J F, et al. The improved everted gut sac: A simple method to study intestinal P-glycoprotein[J]. Int J Pharm, 1998, 173(1/2):255-258.
- [20] 李自强,何新,刘昌孝. 基于胃肠道生理驱动的药物溶出/透过特征同步评价技术研究进展[J]. 药学学报,2016,51(10):1540-1550.
- [21] LI Z Q, HE X. Physiologically based *in vitro* models to predict the oral dissolution and absorption of a solid drug delivery system[J]. Curr Drug Metab, 2015, 16(9):777-806.

[责任编辑 刘德文]