

# 肠外翻囊法研究淫羊藿肠吸收成分及其吸收特征

秦海蛟<sup>1</sup>, 柳梦婷<sup>2</sup>, 唐力英<sup>2</sup>, 战皓<sup>2</sup>, 方婧<sup>2</sup>, 杨洪军<sup>2</sup>,  
付梅红<sup>2</sup>, 王斌<sup>1</sup>, 吴宏伟<sup>2\*</sup>, 谢练武<sup>1\*</sup>

(1. 中南林业科技大学 理学院, 长沙 410004; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:研究淫羊藿肠吸收成分及其吸收特性。方法:采用大鼠外翻肠囊模型,收集高、中、低质量浓度淫羊藿提取物给药后不同时间的肠囊液,采用HPLC检测肠吸收液样品中5种黄酮类成分的含量,计算累计吸收量和吸收速率常数,比较淫羊藿提取物与肠吸收液中指标成分的比例变化情况。结果:提取物中主要黄酮类成分均可在肠吸收液中检测到,针对其中5种主要成分朝藿定A,朝藿定B,朝藿定C,淫羊藿苷与淫羊藿次苷II成功建立了定量分析方法。提取液中、低质量浓度时,这5种成分分别在空肠前、中段的累积吸收量最大,而高质量浓度则后移至回肠段;3种给药质量浓度下,5种成分的肠吸收均为线性吸收( $R^2 > 0.9$ ),符合零级吸收速率;吸收速率常数随着给药浓度的增加而增大,提示各成分的体外肠吸收为被动运输;不同质量浓度淫羊藿肠吸收液的成分间比例与原提取物中各成分间比例存在差异。结论:淫羊藿中朝藿定A,朝藿定B,朝藿定C,淫羊藿次苷II与淫羊藿苷5种成分均可被小肠吸收,外翻肠囊法可有效地评价各成分的吸收特征。

**[关键词]** 淫羊藿; 外翻肠囊法; 朝藿定A; 淫羊藿苷; 淫羊藿次苷II

**[中图分类号]** R945;R969.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)22-0163-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015220163

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151022.1405.028.html>

**[网络出版时间]** 2015-10-22 14:05

**Intestinal Absorption Ingredients in Epimedii Folium and Investigation of Their Absorption Characteristics by Everted Intestinal Sac Method** QIN Hai-jiao<sup>1</sup>, LIU Meng-ting<sup>2</sup>, TANG Li-ying<sup>2</sup>, ZHAN Hao<sup>2</sup>, FANG Jing<sup>2</sup>, YANG Hong-jun<sup>2</sup>, FU Mei-hong<sup>2</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>, WU Hong-wei<sup>2\*</sup>, XIE Lian-wu<sup>1\*</sup> (1. College of Sciences, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To identify intestinal adsorption ingredients of Epimedii Folium and investigate their absorption characteristics in different intestinal segments. **Method:** Everted intestinal sac model was utilized. Intestinal sac fluid samples at different time after administration of high, medium and low concentration of Epimedii Folium extract were collected and five flavonoids in fluid samples were determined by HPLC. Accumulative absorbed doses ( $Q$ ) and absorption rate constants ( $K_a$ ) of five flavonoids were calculated, while proportions of different flavonoid between Epimedii Folium extract and intestinal absorption liquid were compared. **Result:** Epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin and icarisid II were identified and could be quantitatively analyzed in extract and intestinal sac fluid samples of Epimedii Folium.  $Q$  of five flavonoids reached maximum value in front and middle jejunum segments under medium and low concentrations of Epimedii Folium extract, while  $Q$  of five flavonoids reached maximum value in ileum under high concentrations of extract. In these three concentrations of Epimedii Folium extract, absorption model of five flavonoids was linearity with  $R^2 > 0.9$ , which was in consistent with zero order absorption rate.  $K_a$  of five flavonoids increased with increasing of concentration of

**[收稿日期]** 20150805(012)

**[基金项目]** 国家科技支撑计划项目(2011BAI07B08);中国博士后科学基金项目(2013M531787);湖南省科技计划项目(2013RS4035);人社部留学回归人员择优重点项目

**[第一作者]** 秦海蛟,在读硕士,从事中药有效成分及质量控制研究,Tel:0731-85623648,E-mail:qhjeust@163.com

**[通讯作者]** \* 吴宏伟,博士,助理研究员,从事中药化学及中药分析研究,Tel:010-64014411-2948;E-mail:whw9905012@163.com;

\* 谢练武,博士,副教授,从事天然产物化学与生物化工等领域研究,Tel:0731-85623648,E-mail:xiescu@126.com

Epimedii Folium extract, which indicated that intestinal adsorption mechanism of five flavonoids was passive diffusion. Proportions of five flavonoids in intestinal sac fluid were different from those in Epimedii Folium extract.

**Conclusion:** Epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin and icarisid II in Epimedii Folium extract can be absorbed in whole intestine. Everted intestinal sac model can be used to evaluate intestinal absorption characteristics of ingredients in Epimedii Folium extract effectively.

**[Key words]** Epimedii Folium; everted intestinal sac method; epimedin A; icariin; icarisid II

中药在临床使用中常采用口服给药,对于口服药物,胃肠道吸收是影响药物生物利用度和变异性的的重要因素,了解药物的胃肠道吸收机制和吸收部位,对于确定药物的剂型,指导临床用药和联合用药具有重要意义;而且对于具有复杂成分的中药研究,通过分析肠吸收液中的化学成分,可以快速、有效确定中药的药效成分或药效前体成分,在此基础上以肠吸收液作为载体进行药效实验及中药的“组效关系”研究,这对于中药的质量控制和机制研究具有指导意义<sup>[1-2]</sup>。常用的药物肠吸收研究方法有离体外翻肠囊法、在体肠循环法、在体单向肠灌流法等,其中外翻肠囊法是目前最常用的体外肠道吸收生物模型<sup>[3-6]</sup>。外翻肠囊法影响因素少、实验条件可控、药物积累较快且便于样品的分析,适合于主动转运及被动转运机制的研究,该方法已被广泛用于中药有效成分的识别及其吸收机制研究<sup>[7-11]</sup>。

淫羊藿又名仙灵脾,作为中国传统的补益中药,始载于《神农本草经》,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效<sup>[12]</sup>。现代药理研究表明淫羊藿总黄酮作为淫羊藿中的主要活性成分,具有强肝肾、保护心血管系统、预防骨质疏松、提高免疫功能、抗衰老和抗肿瘤等作用<sup>[13-16]</sup>。目前淫羊藿的代谢研究多集中于淫羊藿黄酮类成分的肠道菌群代谢、血清药物化学及药代动力学等方面<sup>[17-18]</sup>,未见该药材中多种黄酮类成分的肠外翻吸收特性研究。本实验采用外翻肠囊法对淫羊藿提取物进行研究,通过高效液相色谱法对空白肠吸收液、淫羊藿提取物、淫羊藿提取物肠吸收液进行分析与比较,识别能够被吸收的有效成分,并建立了肠吸收液中 5 种主要黄酮类成分(朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,淫羊藿次苷 II)的定量分析方法,在此基础上对各成分的肠吸收特征进行分析,为淫羊藿质控成分的选择及其临床合理用药提供参考,为开展淫羊藿肠吸收液的体外活性评价提供参考。

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱系统(美国安捷伦公司),ALC-M 型组织-器官水浴系统(上海奥尔科特

生物科技有限公司),NA-5L 型氮空一体机(北京中兴汇利科技发展有限公司),BP110S 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),Centrifuges ST-21 型高速冷冻离心机(美国 Sorvall 公司),SQ2119 型多功能粉碎仪(上海帅佳电子科技有限公司)。

淫羊藿购于河北安国中药材有限公司,产地甘肃,经中国医学科学院药用植物研究所郭宝林教授鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicorum* 的干燥叶;朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 140512,140515,140511,140507,140512,纯度均 > 98%);葡萄糖(国药集团北京化学试剂公司),Tyrode 缓冲液(台氏液,准确称取 NaCl 8.0 g, KCl 0.28 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05 g, MgCl<sub>2</sub> 0.1 g, NaHCO<sub>3</sub> 1.0 g,溶于 500 mL 水中,密封冷藏;取 CaCl<sub>2</sub> 0.2 g 溶于 500 mL 水中,密闭冷藏;临用前将二者混合均匀,加入葡萄糖 1.0 g 充分溶解,pH 7.2~7.4),乙腈、甲醇和甲酸均为色谱纯,水为娃哈哈纯净水或自制蒸馏水,其他试剂为分析纯。

SD 大鼠,雄性,体重(240 ± 10) g,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(军)2012-0004。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液配制** 精密称取朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿次苷 II 及淫羊藿苷 1.05,1.04,1.21,1.74,2.23 mg 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇充分溶解并定容,得对照品储备液。取该储备液,用甲醇逐步稀释,得系列对照品混合溶液。

**2.2 淫羊藿的提取及其供试液的配制** 将淫羊藿叶用清水洗净,置于 70 °C 烘箱中烘干。将烘干的淫羊藿叶打成粗粉,过 40 目筛,收集粉末。称取粉末 768.0 g,加 5 倍量 95% 乙醇浸泡 1 h,回流 2 次,每次提取 2 h,趁热过滤,合并滤液,70 °C 减压旋转蒸发回收乙醇,减压干燥得淫羊藿提取物。使用前用台氏液将淫羊藿提取物溶解,制成质量浓度分别为 2.56,1.28,0.64 g·mL<sup>-1</sup> 的供试液。

**2.3 淫羊藿肠吸收液的制备** 将实验前禁食 12 h

的大鼠称重后,断颈椎处死,沿腹中线和腹白线分别剪开皮肤与肌肉。迅速取出小肠,自胃幽门以下 10 cm 开始向下为肠段 1;自胃幽门以下 10 cm 开始向下量取 14 cm 为肠段 1;间隔 10 cm 量取 14 cm 为肠段 2;再间隔 10 cm 量取 14 cm 为肠段 3;从回盲瓣以上 5 cm 开始向上取 14 cm 为肠段 4。将剪下的肠管放入 0 ℃ 台氏液中冲洗至无肠内容物为止。将自制硅胶套管软端插入肠管用丝线结扎,小心将肠道翻转。用 0 ℃ 台氏液冲洗内表面,将另一端用丝线结扎成囊状。麦氏浴管中预先加入淫羊藿供试药液 25 mL,通入混合气体(95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>),保持 37 ℃ 恒温。在肠管中注入台氏液 2 mL,放入麦氏浴管中,分别于 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 min 取样 400 μL,同时补充等体积的 37 ℃ 台氏液。样品放入干净的离心管中,于 -80 ℃ 密封直立保存,待用。

**2.4 肠吸收液分析样品的制备** 取 2.3 项下淫羊藿肠吸收液 400 μL 经氮气吹干后,加入甲醇 400 μL 复溶,超声 10 min,涡旋 30 s,用 0.22 μm 滤膜过滤后进行分析。

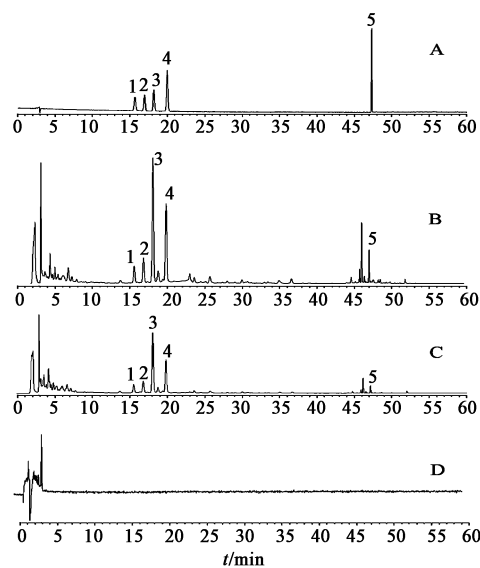
**2.5 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-含 0.1% 甲酸的乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 8 min, 25% B; 8 ~ 20 min, 25% ~ 30% B; 20 ~ 40 min, 30% ~ 50% B; 40 ~ 50 min, 50% ~ 90% B; 50 ~ 60 min, 90% B),流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长 270 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。

**2.6 方法学考察**

**2.6.1 专属性试验** 空白肠吸收液、混合对照品溶液、淫羊藿肠吸收液、淫羊藿提取液的色谱图见图 1。结果显示淫羊藿肠吸收液与淫羊藿提取液色谱图整体相似。5 个成分在淫羊藿肠吸收液中均可找到,说明这些成分均可透过肠系膜,并具有良好的吸收。在建立的色谱条件下 5 种成分峰形良好、各峰均达到基线分离,且空白肠吸收液中无干扰成分,说明该方法专属性良好。

**2.6.2 标准曲线制备** 取 2.1 项下系列混合对照品溶液 400 μL,加入台氏液 400 μL,混合均匀,氮气吹干,用甲醇 400 μL 复溶,超声 10 min,涡旋 30 s,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取滤液 10 μL 进样,以峰面积对质量浓度进行线性回归,回归方程和相关系数见表 1。

**2.6.3 精密度试验** 取高、中、低质量浓度的混合对照品溶液,连续测定 3 次,重复考察 3 d,结果各成



A. 混合对照品; B. 提取液; C. 肠吸收液; D. 空白肠吸收液; 1. 朝藿定 A; 2. 朝藿定 B; 3. 朝藿定 C; 4. 淫羊藿苷; 5. 淫羊藿次苷 II

图 1 淫羊藿不同样品专属性试验

Fig. 1 Specificity test of Epimedii Folium samples

表 1 不同指标成分的回归方程及精密度考察

Table 1 Regression and precision of five flavonoids by HPLC-DAD

成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/μg
朝藿定 A	Y = 16 598X - 17.33	0.998 8	0.010 7 ~ 1.050
朝藿定 B	Y = 18 181X - 15.88	0.999 0	0.010 6 ~ 1.035
朝藿定 C	Y = 20 752X - 10.34	0.998 9	0.012 3 ~ 1.205
淫羊藿苷	Y = 20 960X - 61.17	0.998 1	0.022 8 ~ 2.225
淫羊藿次苷 II	Y = 31 197X - 27.67	0.999 5	0.017 8 ~ 1.735

分日内精密度的 RSD 0.1% ~ 2.8%, 日间精密度 RSD 0.6% ~ 2.9%, 表明仪器精密度良好,符合生物样品分析要求。

**2.6.4 重复性试验** 取高、中、低质量浓度的混合对照品溶液,按 2.6.2 项下方法处理,计算各成分峰面积的 RSD 0.7% ~ 5.5%,符合生物样品分析要求。

**2.6.5 稳定性试验** 取同一供试液,室温(25 ~ 30 ℃)存放,分别于制备后 0, 6, 12, 18, 24 h 按 2.5 项下条件测定,结果各成分的 RSD 1.4% ~ 4.8%,说明样品中 5 个成分在 24 h 内稳定。

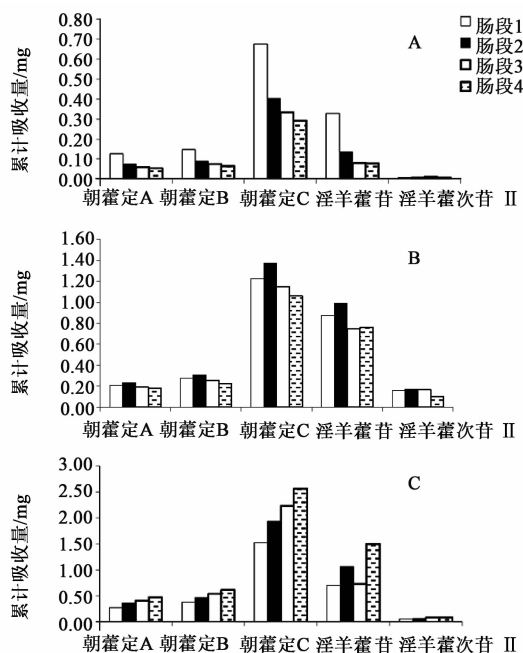
**2.6.6 萃取回收率试验** 分别取高、中、低质量浓度的混合对照品溶液,按 2.6.2 项下方法处理(n = 3),同时将 3 个质量浓度对应的未经处理的对照品溶液直接按 2.5 项下条件测定,计算各成分平均回收率 85.97% ~ 107.40%, RSD 0.8% ~ 4.5%,符合生物样品的分析要求。

2.7 小肠不同部位累积吸收量比较 比较不同给药浓度下,4 h 内各成分在不同肠段的累积吸收量(Q)。

$$Q = C_n \times V_0 + V_1 \sum_{i=1}^{n-1} C_i$$

式中  $V_0$  为加入肠囊空白台氏液的体积,  $V_1$  为每次取样的肠吸收液体积,  $C_n$  为各时间点取样的实际检测浓度, 见图 2。结果低质量浓度时(0.64 g·mL<sup>-1</sup>), 淫羊藿次苷 II 在 4 个肠段的 Q 差异不显著, 而其余 4 个成分的 Q 均在肠段 1(空肠前段)最高, 与其他肠段比较差异显著( $P < 0.05$ ), 且在肠段 2(空肠中段), 肠段 3(空肠末段), 肠段 4(回肠段)中 Q 依次降低; 中质量浓度时(1.28 g·mL<sup>-1</sup>), 5 种成分的 Q 均在肠段 2(空肠中段)最高; 高质量浓度时(2.56 g·mL<sup>-1</sup>), 5 个成分的 Q 均在肠段 4(回肠段)最高。说明 5 种成分在不同肠段的吸收选择性基本一致, 并且给药浓度会对成分在不同肠段的吸收选择性产生影响, 随着给药浓度的增加, 5 种成分在小肠中的最大吸收部位逐步后移, 从空肠前段、中段, 末段移到回肠段。

2.8 淫羊藿提取液中 5 个成分的肠吸收动力学研究 根据 4 h 内整个小肠(包括 4 个肠段)的 Q, 绘制淫羊藿肠吸收液中 5 个成分的时间-累积吸收量曲线, 见图 3, 计算吸收速率常数( $K_a$ ), 见表 2。结果显示在 4 h 内, 朝藿定 A, 朝藿定 B, 朝藿定 C, 淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 在高、中、低质量浓度下的时间-累积吸收曲线基本呈上升趋势, 但并未达到饱和。各成分的 Q 与时间的回归相关系数( $R^2$ )均 > 0.9, 说明 3 个给药浓度下, 5 个成分的体外肠吸收均为线性吸收, 符合零级吸收速率, 即其吸收速率



A. 0.64 g·mL<sup>-1</sup>; B. 1.28 g·mL<sup>-1</sup>; C. 2.56 g·mL<sup>-1</sup>

图 2 不同给药浓度淫羊藿提取液中 5 个成分在不同肠段的累积吸收量( $n=3$ )

Fig. 2 Accumulative absorbed doses of five flavonoids from *Epimedii Folium* extract in different intestinal segment ( $n=3$ )

恒定, 不受肠壁两侧的浓度差影响; 并且各成分的  $K_a$  随着淫羊藿提取液质量浓度的增加而增大, 表明五者的肠吸收均为被动吸收。

2.9 淫羊藿肠吸收液与提取物中 5 个黄酮类成分的含量比例变化比较 中药作用的特点是多种成分综合起效, 而且所含成分的比例变化往往会对药效产生影响, 故将测定 5 个成分的总质量设为 1, 比较肠吸收液(4 个肠段的 Q)和提取物中各成分含量的

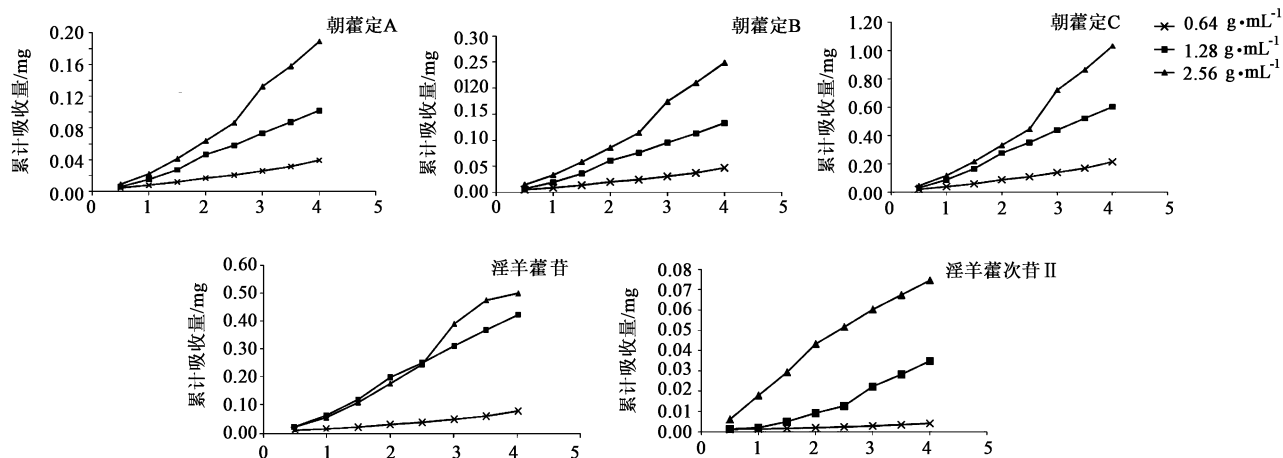


图 3 不同给药浓度淫羊藿提取液中 5 种黄酮类成分的肠吸收时间-累积吸收量曲线( $n=3$ )

Fig. 3 Time-accumulative absorption amount curve of five flavonoids from *Epimedii Folium* extract ( $n=3$ )

表 2 淫羊藿提取液中 5 种黄酮类成分时间-累积吸收量曲线的相关参数 ( $n = 3$ )

Table 2  $K_a$  and  $R^2$  of time-accumulative absorption amount curve of five flavonoids from *Epimedii Folium* extract ( $n = 3$ )

成分	2.56 g·mL <sup>-1</sup> 提取液		1.28 g·mL <sup>-1</sup> 提取液		0.64 g·mL <sup>-1</sup> 提取液	
	$K_a \times 10^3$	$R^2$	$K_a \times 10^3$	$R^2$	$K_a \times 10^3$	$R^2$
朝藿定 A	6.04	0.977 5	3.20	0.996 5	1.10	0.985 2
朝藿定 B	7.85	0.976 9	4.18	0.996 8	1.33	0.984 5
朝藿定 C	33.22	0.970 7	19.16	0.997 4	6.17	0.983 9
淫羊藿苷	17.23	0.970 6	13.45	0.997 4	2.18	0.967 8
淫羊藿次苷 II	2.24	0.947 2	1.14	0.986 2	0.09	0.971 0

注:不同质量浓度提取液间各成分的  $K_a$  两两比较,均具有统计差异 ( $P < 0.05$ )。

一致性,见图 4。结果显示肠吸收液和提取物中 5 种黄酮类成分的含量大小排序没有改变(朝藿定 C > 淫羊藿苷 > 朝藿定 B > 朝藿定 A > 淫羊藿次苷 II),但随着给药浓度的增加,朝藿定 A 和朝藿定 C 在肠吸收液中所占比例呈降低趋势,而淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 则呈上升趋势。与提取物比较,中、低质量浓度下的肠吸收液中朝藿定 A 和朝藿定 C 所占比例明显增加;淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 所占比例明显降低;而高质量浓度肠吸收液中,除淫羊藿次苷 II 所占比例明显增大外,其余各成分所占比例变化不大。说明淫羊藿提取物经小肠系膜吸收后,所含 5 个黄酮类成分的比例发生改变,且受到给药浓度的影响。

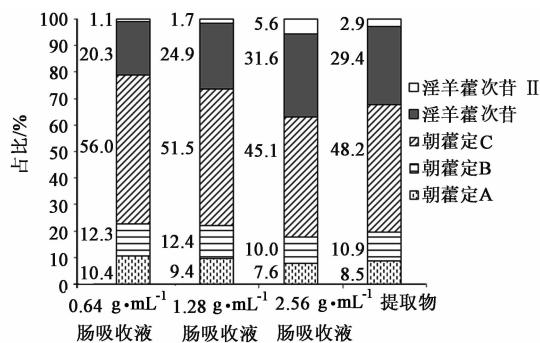


图 4 淫羊藿肠吸收液与提取物中 5 个黄酮类成分间比例比较 ( $n = 3$ )

Fig. 4 Comparison of proportion of five flavonoids in intestinal sac fluid with those in *Epimedii Folium* extract ( $n = 3$ )

### 3 讨论

**3.1 高效液相色谱分析方法的优化** 本文比较了甲醇-水和乙腈-水 2 种洗脱系统,并比较了不同品牌色谱柱。发现采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱,乙腈-水为流动相并加入 0.1% 甲酸条件下,可得到良好的色谱图峰形,测定的成分达基线分离且无其他成分干扰;采用 DAD 检测器进行全波长扫描,确定 270 nm 作为 5 种成分的检测波长,各成分具有良好的灵

敏度。本文还对肠吸收液样品的处理方法进行了考察,比较肠吸收液高速离心后直接测定与 N<sub>2</sub> 吹干后复溶测定 2 种样品前处理方法,结果发现 N<sub>2</sub> 吹干后复溶能够有效减少杂质干扰,提高检测的信噪比;在此基础上对复溶溶剂进行了考察,比较了甲醇,70% 甲醇和 50% 甲醇的复溶效果,结果显示甲醇复溶样品所测含量最高。

**3.2 指标成分在小肠的转运特点、吸收类型及相关代谢特征分析** 基于离体肠外翻模型,淫羊藿提取物中 5 种黄酮类成分的肠吸收均为线性吸收,转运方式为被动转运。但通过在体肠灌流模型发现淫羊藿苷结构类似物(槲皮素)会对淫羊藿苷肠吸收产生竞争性抑制作用,采用 Caco-2 细胞模型研究发现淫羊藿苷,朝藿定 A,朝藿定 B 和朝藿定 C 在小肠吸收转运的过程中存在肠道转运蛋白的外排效应(分泌渗透系数大于吸收渗透系数),说明淫羊藿中黄酮类成分在小肠的摄取过程中除被动吸收外还有主动运载体体的参与<sup>[19-20]</sup>。

此外,不同质量浓度下 5 种黄酮类成分在肠吸收液和原药液中所占比例存在差异,一方面是由于各个成分吸收动力学特点不同所导致,另一方面肠细胞内酶的作用会对黄酮类成分的吸收和代谢产生较大影响。相关文献研究表明淫羊藿苷,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C 在肠内药酶的作用下会发生代谢转化,脱去葡萄糖,并且肠道内的药酶对淫羊藿黄酮苷类化合物的水解具有选择性,糖链长短不同其水解速率亦不相同。推测肠细胞内酶的水解作用及各化合物本身吸收特征不同是导致肠吸收液中个成分的比例发生变化的主要原因<sup>[21-23]</sup>。以  $Q$  为指标,低、中质量浓度下,5 种黄酮类成分最佳吸收部位分别为肠段 1 和肠段 2,与在体肠灌流模型所确定的淫羊藿苷最佳吸收部位相一致<sup>[24]</sup>;但随着给药浓度的升高,发现药物的主要吸收部位后移,由空肠段变

为回肠段,其原因和吸收特点有待进一步研究确认。

### 3.3 肠外翻模型的特点及其在中药研究中的应用

外翻肠囊法保留了肠囊组织的完整及黏膜的特性,能根据囊内被测药物随时间的变化量直观地反映出药物的吸收情况,不足之处在于切断了肠段血流和神经,随着体外时间延长,肠道黏膜形态功能会发生明显变化,并且无法反映肠道菌群对成分代谢的影响。本文研究发现在4 h开始出现肠囊黏膜脱落现象,为保证实验过程中肠囊的生物活性,实验时间不能太长,建议4 h内为宜。

外翻肠囊法作为一种操作简单、重复性良好的体外药物吸收模型,除了可用于评价药物分子的转运模式和吸收机制研究外<sup>[25-26]</sup>,还可用于快捷制备肠吸收液并用于体外药理实验。应用含药肠吸收液进行体外药理实验,既可排除中药提取物中杂质对活性的影响,又可解决血清中生物活性物质的干扰问题,省了血清药理学复杂的操作步骤,且重复性强,已在中药有效成分辨识、体外活性评价及机制研究等方面具有良好的应用<sup>[27-28]</sup>。

#### [参考文献]

[1] 许海玉,杨洪军. 整合药理学:中药现代研究新模式[J]. 中国中药杂志,2014,39(3):357-361.

[2] 杨洪军,雷燕,唐仕欢,等. 发现辨识优化——中药新药设计的核心与关键[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2011,13(1):154-158.

[3] 翁榕安,李小曼. 药物小肠吸收的常用方法比较[J]. 医学综述,2009,15(2):269-270.

[4] 陈伟薇,李俊,宋珏. 药物肠吸收的研究方法进展[J]. 安徽医药,2009,13(4):349-351.

[5] Wilson T H, Wiseman G. The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface[J]. Physiology, 1954,123(1):116-125.

[6] 徐术,刘忠良,胡晋红. 药物肠吸收的实验研究方法概述[J]. 中国药房,2009,20(16):1266-1268.

[7] 畅静,田莉,张慧慧,等. 离体外翻肠囊法研究安石榴苷的大鼠肠吸收特性[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(24):122-126.

[8] 黄斌,李耿,郭宇飞,等. 脑心通胶囊中4个成分肠吸收研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(6):889-893.

[9] 梁新丽,赵国巍,罗云,等. 外翻肠囊法研究白芷有效组分对配伍“对药”有效成分肠吸收的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(17):193-197.

[10] 张英丰,杨庆,李玉洁,等. 离体外翻肠囊法研究丹参水溶性提取物丹酚酸B的大鼠肠吸收特性[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):187-191.

[11] 吴涛,郑娟,张程亮,等. 中药肠吸收的研究进展[J]. 药品评价,2013,10(6):30-35.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:305-308.

[13] 陈虹,张秀珍. 淫羊藿甙对大鼠成骨细胞分泌细胞因子的影响[J]. 同济大学学报:医学版,2005,26(2):5-7.

[14] 王婷,张金超,陈瑶,等. 6种淫羊藿黄酮抗氧化和抗肿瘤活性的比较[J]. 中国中药杂志,2007,32(8):715-718.

[15] 蔡曼玲,季晖,刘悦,等. 五种淫羊藿黄酮类成分对体外培养成骨细胞的影响[J]. 中国天然药物,2004,2(4):235-238.

[16] Wu H, Lien E J, Lien L L. Chemical and pharmacological investigations of *Epimedium* species: a survey[M]. Prog Drug Res,2003,60:1-57.

[17] 徐文,张亚萍,张卫东,等. 离体大鼠肠道菌群对淫羊藿苷的代谢研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2006,8(6):98-106.

[18] 贾晓斌,钱浅,孙娥,等. 淫羊藿黄酮药代动力学研究进展[J]. 中成药,2012,34(11):2193-2197.

[19] 孟华,王广基,孙建国,等. 体外及在体方法研究淫羊藿苷吸收特性和机制[J]. 中国药理通讯,2004,21(3):45-46.

[20] 陈彦,贾晓斌. Caco-2细胞单层研究淫羊藿黄酮类成分的吸收转运[J]. 中草药,2009,40(2):220-224.

[21] 赵艳红,贾晓斌,陈彦,等. 淫羊藿黄酮类化合物的大鼠在体肠吸收研究[J]. 中国药学杂志,2008,43(3):188-191.

[22] 陈彦,贾晓斌,谭晓斌,等. 大鼠肠道水解酶对淫羊藿黄酮苷的处置影响[J]. 中国药学杂志,2010,45(7):516-519.

[23] 韩惠,单洪,周福军,等. 淫羊藿中活性成分的代谢产物研究进展[J]. 现代药物与临床,2013,28(1):78-82.

[24] 赵艳红,贾晓斌,陈彦,等. 淫羊藿苷大鼠在体肠吸收动力学的研究[J]. 中华中医药杂志,2007,22(10):681-684.

[25] Barthe L, Woodley J, Houin G. Gastrointestinal absorption of drugs: methods and studies[J]. Fund Clin Pharmacol,1999,13(2):154-168.

[26] Kilic F S, Batu O, Sirmagul B, et al. Intestinal absorption of digoxin and interaction with nimodipine in rats[J]. Pol J Pharmacol,2004,56(1):137-144.

[27] Zhang Y C, Xu H Y, Chen X M, et al. Study on the application of intestinal absorption *in vitro* coupled with bioactivity assessment in Yuanhu Zhitong preparation[J]. J Med Plants Res,2012,6(10):1941-1947.

[28] Zhang F, Huang B, Zhao Y, et al. BNC protects H9c2 cardiomyoblasts from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative injury through ERK1/2 signaling pathway[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, doi: 10.1155/2013/802784.

[责任编辑 刘德文]