

· 综述 ·

单向在体肠灌注在中药研究中的应用

许永崧, 韩晓凤, 龚慕辛*, 翟永松, 李朝霞, 李静, 贺蕊
(首都医科大学 中医药学院, 中医络病研究北京市重点实验室, 北京 100069)

[摘要] 化合物的溶解性和渗透性在评价候选药物的口服吸收及生物药剂学分类系统占有重要地位, 基于中药多成分特点, 所提出的中药生物药剂学分类系统更适用于中药成分的研究。谱效相关技术的普及为寻找中药药效物质成分提供了新方法, 而以肠吸收谱为切入点, 避免了血清谱复杂的体内分布、代谢过程带来的难题, 且不易遗漏不吸收的有效组分, 更加简便, 更适用于复方药效物质基础的研究。单向在体肠灌注模型是公认的研究药物在体吸收的模型, 在一定程度上准确模拟了口服药物的在体吸收, 联用运用肠系膜取血等技术, 可较为真实反映成分吸收入血情况, 更加适用于中药生物药剂学分类系统及谱效相关研究, 值得注意的是, 单向在体肠灌注实际上反映的是各组分表观吸收, 欲进一步了解其吸收机制, 还需结合单个药物、成分的单向肠灌注研究及在体吸收研究。在单一成分研究的基础上, 再对其多成分环境下的特征和规律进行研究, 回归到以中药或复方为整体的研究中去。近年来, 单向在体肠灌注在中药研究中应用越来越多。查阅近 20 年文献, 对筛选出用于中药研究的 200 多篇文献进行分析, 结合课题组经验, 总结其在中药有效成分、单味药、药对、复方研究中的应用及使用时的注意事项, 为其在中药研究中的进一步应用提供参考。

[关键词] 单向在体肠灌注模型; 肠吸收; 中药多成分

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)01-0211-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016010211

Application of Single-pass Intestinal Perfusion Technique in Traditional Chinese Medicine

XU Yong-song, HAN Xiao-feng, GONG Mu-xin*, ZHAI Yong-song, LI Zhao-xia, LI Jing, HE Rui
(Beijing Key Lab of Traditional Chinese Medicine (TCM) Collateral Disease Theory Research, School of TCM, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] Compound solubility and permeability play an important role in evaluating oral absorption of drug candidates as well as their Biopharmaceutics Classification System (BCS). Based on the characteristics of multicomponent of traditional Chinese medicine (TCM), the BCS of Chinese materia medica (CMMBCS) is more suitable for TCM research. The popularization of the spectral correlation technique provides a new method for finding the active ingredients of TCM. Taking intestinal absorption spectrum as the breakthrough point, it avoids the problems of the complex distribution of serum spectrum, as well as the metabolic process, and is not easy to omit the non-absorbent effective components, which is more convenient and more suitable for the study. The single-pass intestinal perfusion (SPIP) model is generally recognized as the model for *in situ* drug absorption study, which is able to correctly simulate the *in situ* absorption conditions of oral drugs. Combined with mesenteric blood taking method, it can reflect the actual composition absorption into the blood, more suitable for the study of CMMBCS and

[收稿日期] 20150326(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473360);北京市教育委员会科技计划面上项目(KM201210025011);首都中医药研究专项重点课题项目(13ZY02)

[第一作者] 许永崧, 硕士, 从事中药复方物质基础研究, Tel:13501135486, E-mail: komatuxys@foxmail.com

[通讯作者] * 龚慕辛, 博士, 博士生导师, 教授, 从事中药复方物质基础研究, Tel:010-83911632, E-mail: gongmuxin@126.com

spectrum efficiency. However, SPIP actually reflects the apparent absorption of each component in compound, and a single composition of SPIP and *in vivo* absorption research should be combined for further absorption mechanism. It is necessary to study the absorption characteristics in multicomponent environment on the basis of single component research, and then return to TCM or compound for the whole research. In recent years, SPIP has been widely used in TCM research. In the literatures of recent 20 years, more than 200 articles were analyzed to summarize its applications in TCM, and combined with the experience of research team, it could be used to summarize the effective components, single herb, pair-herb compatibility, application in Chinese medicine compound, and the notice items in use, in order to provide reference for further application in TCM research.

[**Key words**] single-pass intestinal perfusion; intestinal absorption; traditional Chinese medicine composition

口服给药是中药最主要的传统给药方式,肠吸收是其最主要的吸收途径。研究药物口服后肠道的吸收情况对评价药物的生物利用度、改进药物的剂型、提高疗效具有非常重要的意义。以生物药剂学分类系统的科学框架为基础建立的中药生物药剂学分类系统(CMMBCS),从中药多成分吸收角度,研究多成分环境下的中药特征指标成分的药物的吸收特征,辅以谱效相关研究方法,以肠吸收谱为切入点,有效避免了血清谱效相关中复杂体内动态过程带来的困难,为研究中药疗效物质基础,阐明中药复方的配伍机制,理解中医药理论的科学内涵提供了新思路^[1-2]。

上述研究中常用的单向在体肠灌流模型(single-pass intestinal perfusion, SPIP)1986年首次应用于药物吸收研究^[3],是公认的研究药物吸收代谢的有效模型,同时也是FDA认可的生物药剂学分类学中研究药物与候选药物吸收特征的模型之一^[4]。通过对近20年的国内外文献分类整理,发现SPIP主要用于中药单个有效成分、多个有效成分、复方药对等方面的研究,并总结应用SPIP时的注意事项,以供同道参考。

1 中药单个有效成分的研究

中药有效成分的胃肠转运研究一直是SPIP的研究热点之一。研究成分吸收的最佳部位,弄清pH,浓度,P-gp蛋白抑制剂、吸收促进剂等对成分吸收的影响,对成分新剂型的开发有重大指导意义。国内外的文献报道中,以生物利用度低的苷类和黄酮类成分研究居多,如黄酮苷类淫羊藿苷^[5],黄芩苷^[6],牡荆素^[7],芍药苷^[8],蒙花苷^[9],毛蕊异黄酮葡萄糖苷^[10],田藊苷^[11],高车前苷^[12],金丝桃苷^[13]等;皂苷类(20)-原人参二醇^[14],白头翁皂苷D^[15],积雪草苷^[16],续断总皂苷^[17],黄芪甲苷^[18],薯蓣皂苷^[19],灵仙新苷^[20],刺五加皂苷B^[21]等;强心苷类

杠柳毒苷^[22],杠柳次苷^[23],地高辛^[24]等;此外,还有连翘脂苷A^[25],红景天苷^[26],丁香苦苷^[27],牛蒡子苷^[28]等。黄酮类如葛根素^[29],木犀草素^[30],芹菜素^[31],水飞蓟素^[32],川陈皮素^[33],灯盏花乙素^[34],芫花素^[35],甘草素^[36],异甘草素^[37],汉黄芩素^[38],柚皮素^[39]等。生物碱类如盐酸小檗碱^[40],乌头碱^[41],黄连小檗^[42],巴马汀^[42],黄连碱^[42],表小檗碱^[42],药根碱^[42],胡椒碱^[43],苦参碱^[44],氧化苦参碱^[45],青藤碱^[46],盐酸麻黄碱^[47],拉马宁碱^[48],茶碱^[49],秋水仙碱^[50],羟基喜树碱^[51]等。醌类如大黄酸^[52],芦荟大黄素^[53],隐丹参酮^[54],丹参酮IIB^[55],大黄素^[56],紫草素^[57],大叶茜草素^[57]等。萜类如紫杉醇^[58],穿心莲内酯^[59],齐墩果酸^[60],补骨脂酚^[61],雷公藤甲素^[62],熊果酸^[63],灵芝三萜^[64]等。苯丙素类如绿原酸^[65],补骨脂素^[66],瑞香素^[67],秦皮甲素^[68],蛇床子素等^[69],研究涉及成分种类繁多。主要集中在已知有效成分,水溶解度低、口服吸收差成分,以及紫杉醇等价格昂贵,急需提高生物利用度、开发合适新剂型的成分。

运用SPIP模型,饶小勇等^[15]考察了吸收部位,药物浓度,P-gp蛋白抑制剂和pH对白头翁皂苷D吸收的影响,发现各肠段的 K_a 和 P_{app} 为结肠>回肠>空肠>十二指肠,说明其吸收主要部位为结肠;不同质量浓度的灌流液在结肠的吸收无显著差异,初步确立其为被动扩散;加入维拉帕米后其吸收明显增加,证明为P-gp底物;白头翁皂苷D为弱酸性化合物,随着pH的增高,易成盐,增大溶解度, K_a 和 P_{app} 值不断增加,为使用制剂手段增加其溶解性提供了依据。王婷婷等^[11]考察了不同蛋白抑制剂对田藊苷在大鼠空肠段吸收的影响,发现加入维拉帕米、利血平后,其在空肠的 K_a 和 P_{app} 显著增加,加入根皮苷后其空肠 P_{app} 显著降低,而利福平对其没有显著影响,推测P-gp和乳腺癌耐药蛋白(BCRP)外

排机制可能是其口服生物利用度低的原因,加入可抑制上述蛋白作用的药物和辅料,为提高其生物利用度指明了方向。

卫世杰等^[70]考察了促吸收剂对水飞蓟宾及其磷脂复合物肠吸收的影响,发现其形成磷脂复合物后在各肠段的吸收都有增加,聚山梨醇酯对水飞蓟宾及其磷脂复合物无明显促进吸收作用,甘胆酸钠和卡波姆有较弱的促进吸收作用,十二烷基硫酸钠对水飞蓟宾具有较强的促进吸收作用,而对其磷脂复合物作用较弱,聚氧乙烯氢化蓖麻油对水飞蓟宾和磷脂复合物均有较强的促进吸收作用,为剂型设计和辅料选择提供参考。还有部分学者对黄酮的肠代谢机制进行了研究,如范艳芳等^[71]在野黄芩素 FVB/NCrIvR 小鼠磺酸化代谢特征研究中发现野黄芩素在体内不同肠段的存在不同的代谢反应特征,提示某些药物成分在灌流过程中可能被肠道内细菌或酶代谢,需引起注意。

SPIP 在药物新剂型评价中占有重要地位。Wu 等^[72]发现将黄芩苷制成磷脂复合物自乳化微乳剂后其 P_{eff} 值明显增加,更易于人体的吸收。Zhang 等^[5]发现经环糊精包合后的淫羊藿苷的肠道吸收明显增加,而羟丙基 β -环糊精由于其 P-gp 抑制作用吸收更多。Shao 等^[73]将胡椒碱制成自乳化微乳剂后,无论是在体内药代动力学或是 SPIP 模型中,胡椒碱的相对生物利用度、相对渗透率明显提高,从另一方面也说明了 SPIP 与体内模型具有较好的相关性。

2 中药多个有效成分的研究

近年来有采用多元分析方法分析多成分在吸收中的相互作用的报道。吴青青等^[74]联用 SPIP 和颈静脉插管取血、胆囊结扎技术,结合灌流液、胆汁、血样及肠道酶共孵育实验分析甘草主成分及提取物的吸收特征,发现甘草提取物中其他成分能够促进甘草苷的吸收,但对甘草酸无显著的影响,血液、胆汁以及肠道酶共孵育实验未见到甘草苷、甘草酸及代谢产物,可能在试验时间内,甘草提取物中其他成分未能提高这两种成分吸收入血、胆汁中的含量。Li 等^[75]联用 SPIP 技术和 Caco-2 细胞模型发现黄芩素、汉黄芩素、木蝴蝶素混合给药能够促进三者在小肠的吸收,并减少 II 期代谢。You 等^[76]联用 SPIP 技术和 Caco-2 细胞模型,研究肠道微生物群以及转运蛋白对于黄芩素和野黄芩素吸收的影响,发现 P-gp、多药耐药相关蛋白以及 BCRP 蛋白均能抑制影响野黄芩素的吸收,加入上述转运蛋白的抑制剂后

促进了野黄芩素的吸收以及野黄芩素转化为黄芩素,从而影响黄芩素和野黄芩素的比例,影响治疗效果,对临床用药具有一定的指导意义。

3 中药复方的研究

3.1 复方物质基础 蔡凝芳^[77]运用 SPIP 研究补肺活血胶囊中黄芪的物质基础,分析灌流液中主要成分减少情况,并结合大鼠在体模型,分析吸收入血成分及尿液中成分,确定毛蕊异黄酮、芒柄花素和黄芪总皂苷为主要有效成分,并进行成分优化提取、纯化工艺,为深度研究补肺活血胶囊奠定基础。

3.2 药对配伍作用 Liang 等^[78]分别以外翻肠囊法和 SPIP 研究白芷黄芩配伍后黄芩苷的吸收变化,发现白芷提取物能显著提高黄芩苷的吸收,其促吸收作用与抑制 P-gp 蛋白无关,黄芩苷可通过 β -葡萄糖醛酸酶水解为黄芩素而被吸收,结肠内该酶数量高于十二指肠,但白芷的促吸收作用主要表现在十二指肠,其相互作用机制有待进一步探索。Zhang 等^[79]同样以外翻肠囊法和 SPIP 研究附子甘草配伍后的成分吸收变化,发现乌头碱、次乌头碱、新乌头碱 3 种生物碱在配伍后能够快速溶出并吸收入血,为酸-碱药对的配伍机制研究提供了新思路。

3.3 复方配伍作用 葛根芩连汤^[80]不同配伍组主要成分的肠吸收特征研究发现甘草可促进葛根中葛根素和大豆苷的吸收,葛根也可促进甘草苷的吸收。黄芩苷与汉黄芩苷在全方及不同配伍组的吸收情况表明,葛根和甘草可促进黄芩苷的吸收,且葛根的作用强于甘草;葛根同样可促进汉黄芩苷的吸收,但甘草对其则为抑制作用。葛根与甘草均可促进黄连有效成分药根碱、小檗碱和巴马汀的吸收。汪汀等^[81]以栀子苷为主要指标成分,研究栀子厚朴汤方剂配伍的合理性,发现经枳实、厚朴配伍后,栀子苷的吸收显著增加,为该方剂的配伍合理性提供依据。

此外,部分学者对复方中药间不同配比对各成分吸收的影响进行了探索。涂瑶生等^[82]以吴茱萸碱、吴茱萸次碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱为主要指标成分,研究黄连吴茱萸不同配比的在体肠吸收,发现黄连和吴茱萸无论单煎或不同比例组方各成分在各肠段均有吸收,在黄连-吴茱萸为 1:1 和 6:1 时于空肠和回肠较易吸收,黄连-吴茱萸为 2:1 时于回肠较易吸收。

4 模型制备与注意事项

通过对上述文献进行整理学习,结合课题组前期实验,对 SPIP 实验注意事项进行总结,以供参考。

4.1 水分校正 灌流液一般采用 K-R 液作为基

质。由于小肠不仅吸收药物也吸收或分泌水分,使灌流液的体积发生变化,从而导致药物浓度的变化,因此需进行水分校正。目前水分校正方法有¹⁴C 标记法、酚红法、质量法。¹⁴C 标记法由于其操作复杂性及安全性问题较少被采用^[83]。酚红长期被用来校正灌流液水分变化。但有文献报道,酚红会被小肠吸收,其平均吸收率为 6%^[70],肠吸收速率为 $(3.18 \pm 0.27)\% \cdot h^{-1}$ ^[84],用其校正灌流液体积时可导致 K_a 为负值。因此有学者认为对于吸收较好的药物,由酚红带来的误差对实验结果影响并不明显,可忽略不计;但对于难吸收的成分,如葛根素等,酚红的吸收有可能带来极大的影响^[85]。此时,需考虑采用质量法校正。Sutton S C 等^[83]分别以¹⁴C 标记法、酚红法、质量法校正水分,发现质量法校正后的平均水通量是¹⁴C 标记法、酚红法的 2 倍,且变异系数小、更准确,更适合作为 SPIP 的水分校正方法。与质量法相比,改良质量法从灌流液中抽取固定体积称量,测定密度,进而校正体积,消除了由于肠道的分泌、黏膜脱落以及药物被吸收等原因导致的药物吸收前和吸收后密度改变的因素,更加准确可靠^[86]。

但是课题组研究发现:是否采取水分校正及采用何种水分校正方法尚需考虑成分对肠道水分分泌或肠道蠕动的影 响。如进行芍药甘草汤的 SPIP 研究中发现,单位时间内流出液的体积均比灌流进的体积有所增加,究其原因可能是白芍可促进小肠和大肠的推进运动,并使小肠大肠中水量增多有关^[87]。此现象在吴茱萸汤的 SPIP 研究中同样出现,唐映红等^[88]对吴茱萸汤的温脾止泻作用进行研究,发现其能抑制小肠的推进运动,促进肠道对水分和电解质的吸收。因此,水分校正方法选择对结果的影响需要重视。

4.2 灌流液 pH pH 分配学说认为药物的吸收取决于药物在胃肠道中的解离状态和油水分配系数^[89],人体肠道的 pH 通常在 6 ~ 8,很难低于 5.5^[90],同一成分在不同 pH 环境中的溶解度、解离度、稳定性等有很大差别,因此确定合适的灌流液 pH 值对研究成分的肠道吸收特征尤其重要。复方中众多成分性质不一,筛选 pH 值时需考虑对各成分的稳定性和解离程度的影响。

4.3 中药复方灌流液制备 中药复方由于所含成分复杂,灌流液往往为混悬液,浓度大时易造成肠道堵塞,混悬物也易滞留在肠道中,可导致成分吸收的假阳性。有文献^[81]采用超声 20 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液的方法制备含药灌流液,经实

验证实可避免上述问题出现。以蠕动泵持续向肠段供给上清液,保证了吸收时药物溶液为持续饱和状态,模拟人体口服药物混悬液,成分一旦吸收导致药物浓度减小,即有沉淀溶解补充保证饱和的状态,更符合中药复方的吸收特性,但需检测离心后上清液中各成分的含量以供下步计算。

4.4 灌流通路饱和 通常以聚乙烯软管作为灌流通路,某些成分可能被软管吸附造成假阳性吸收,因此在正式实验前需对软管进行饱和和处理,即以蠕动泵将所需通路在配制好的灌流液中以低流速循环灌流过夜。

4.5 肠壁物理吸附考察 一般情况下经肠道灌流后成分减少即被认为已吸收,而实际上还可能由肠壁吸附、药物代谢等引起,故通常 P_{app} 值会比实际值大^[91]。因此,需考察肠壁对研究成分的吸附情况,即剪取所考察肠段,将黏膜层翻出,洗净后置于已知浓度的灌流液中 37 °C 孵育 2 h 后,测定成分含量的变化^[92]。对于可能由药物肠道代谢引起的减少,可通过空白灌流液经肠灌流后与药物孵育检测变化,或者直接检测代谢物进行验证。

4.6 大鼠禁食时间^[67] 建议禁食 16 ~ 18 h 以保证试验时肠内容物少,自由饮水过夜,但需要将大鼠饲养在悬挂笼内以免大鼠因过长时间的禁食而进食排泄物。

4.7 麻醉方式 实验室常用的麻醉剂为乙醚、水合氯醛、乌拉坦、戊巴比妥钠等。乙醚药量不易控制^[93]。水合氯醛常用剂量为 350 mg·kg⁻¹,麻醉时间约为 2 h,动物肌肉松弛效果较差^[94]。乌拉坦为长效麻醉剂,作用温和持久,常用剂量为 1 000 mg·kg⁻¹,麻醉时间约为 3 h,可深度麻醉,肌肉松弛效果好,但毒性较强^[93]。有研究^[95]表明水合氯醛对离体十二指肠平滑肌收缩有较强抑制作用,乌拉坦次之,戊巴比妥钠最弱,因此进行麻醉大鼠小肠运动的中枢调控机制的研究时,宜采用戊巴比妥钠麻醉。但戊巴比妥钠为管制精神类药物,不易获取,建议采用乌拉坦麻醉。此外,有条件也可选择小动物麻醉仪。

4.8 肠道定位 SPIP 模型在实验过程中需注意牵拉对肠道的正常功能的影响。常用牵拉器械为弯镊,可在两镊子头套上塑料软管,以减少器械对肠段的损伤。此外,由于生理结构特点,大鼠十二指肠前半部分周围包裹胰腺组织,且位于结肠之下,在操作时难以牵拉出测量长度,以体重 (200 ± 20) g 的雄性 SD 大鼠为例,其中无法观察到的十二指肠长度

约为 6 cm,因此可在距幽门 1 cm 处插管结扎后,将空肠等肠段牵拉出体外至无法牵拉后取 4 cm 插管结扎作为十二指肠的考察肠段。

4.9 肠道平衡流速 对于平衡时流速大部分学者采用 $0.1 \sim 0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速平衡 30 min 后开始计时,流速越低所需平衡时间越长^[67],也有学者采用 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速平衡 10 min 后直接换成 $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速进行灌流^[96],还有的是以 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速平衡 10 min 后,改为 $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速继续平衡 20 min 后,开始计时^[97],既可使肠道内迅速充满含药灌流液,又能使肠段提前适应正式计时的流速。

4.10 肠段测量 取样结束后,需测量肠段的长度与内径,但内径是无法准确测量的,因此在数据处理过程中常将肠腔内径均假定为定值,已被广泛应用^[98]。十二指肠、空肠和回肠的内径十分接近,三者间的 P_{app} 值具有较强的可比性,但结肠腔的内径较大,如果把结肠的内径等同于其他肠段内径进行处理,必定会使 P_{app} 值偏大,因此对肠腔内径相差显著的肠段进行药物吸收比较时应慎重考虑^[98]。此外,有文献^[99]指出,对于大鼠,小肠肠腔内径为 $0.15 \sim 0.17 \text{ cm}$,常用 0.16 cm ;而大肠腔内径为 $0.15 \sim 0.25 \text{ cm}$,常用 0.20 cm ,二者相差较大。

对于测量肠段长度的时间,有学者建议取样结束后立即处死大鼠取出考察肠段测量^[91],但此时由于肠道尚有活性,会有一定程度的收缩,容易造成测量结果偏差,因此建议待大鼠死亡 $5 \sim 10 \text{ min}$ 后测量。

5 小结

SPIP 在一定程度上准确模拟了口服药物的在体吸收,应用越来越广泛。但目前多集中在单个成分和主要成分配伍前后吸收差异的比较,对复方多成分配伍吸收机制的阐明仍显不足。而且研究多以正常动物为对象,鲜有涉及病理模型动物,正常动物与病理模型动物之间肠道吸收的差异需引起关注^[100]。药物的肠吸收是一个复杂的过程,易受到肠道菌群和肠道代谢酶的影响,通过 SPIP 检测到的成分减少不一定是被吸收,也可能是在肠道内发生代谢或蓄积在肠壁中^[54],应用 2 种以上的试验方法并结合吸收入血成分研究,结果才更科学可靠。

在体肠灌流实际上反映的是各组分表观吸收,欲进一步了解其吸收机制,还需结合单个药物、成分的单向肠灌流研究及在体吸收研究。在单一成分研究的基础上,再对其多成分环境下的特征和规律进

行研究,回归到以中药或复方为整体的研究中去^[1]。

中药活性成分在胃肠转运过程中的吸收与代谢是中药产生生物效应的重要环节,不吸收或以往研究认为的无效成分可能对有效成分的肠吸收产生影响,这些成分就不再为无效成分。以 SPIP 模型、外翻肠囊模型获取肠吸收谱,进行谱-效寻找药效物质基础,避免了血清谱复杂的体内分布、代谢过程带来的难题,且不易遗漏不吸收的有效组分,更加简便,更适用于复方药效物质基础的研究。

[参考文献]

- [1] 刘洋,隗丽,董玲,等. 多成分体系下中药生物药剂学分类系统的构建分析[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(23):4479-4483.
- [2] 潘学强,吴燕川,龚慕辛,等. 外翻肠囊吸收成分与药效相关研究吴茱萸汤治疗偏头痛的药效物质[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(1):126-133.
- [3] Schurgers N, Bijdendijk J, Tukker J J, et al. Comparison of four experimental techniques for studying drug absorption kinetics in the anesthetized rat *in situ* [J]. J Pharm Sci, 1986, 75(2):117-119.
- [4] 潘璐琳. 脑得生片有效成分葛根素及阿魏酸的胃肠吸收代谢及其药代动力学研究[D]. 镇江:江苏大学, 2009.
- [5] Zhang Y, Wang Q S, Cui Y L, et al. Changes in the intestinal absorption mechanism of icariin in the nanocavities of cyclodextrins [J]. Int J Nanomedicine, 2012, 7:4239-4249.
- [6] Shi Y J, Jin H, Shi X J, et al. Characterization and evaluation *in vivo* of baicalin-nanocrystals prepared by an ultrasonic-homogenization-fluid bed drying method [J]. Chin J Nat Med, 2014, 12(1):71-80.
- [7] Xu Y A, Fan G, Gao S, et al. Assessment of intestinal absorption of vitexin-2''-o-rhamnoside in hawthorn leaves flavonoids in rat using *in situ* and *in vitro* absorption models [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2008, 34(2):164-170.
- [8] Liu Z Q, Jiang Z H, Liu L, et al. Mechanisms responsible for poor oral bioavailability of paeoniflorin: role of intestinal disposition and interactions with sinomenine [J]. Pharma Res, 2006, 23(12):2768-2780.
- [9] Feng X, Liu Y, Wang X, et al. Effects of piperine on the intestinal permeability and pharmacokinetics of linarin in rats [J]. Molecules, 2014, 19(5):5624-5633.
- [10] 赵晓莉,潘鹏,周乐,等. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷大鼠在体肠吸收动力学的研究[J]. 南京中医药大学学

- 报, 2012, 28(6):552-554.
- [11] 王婷婷, 李伟, 袁勇, 等. 大鼠单向灌流模型研究田蓟苷的在体肠吸收[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7):1079-1082.
- [12] 孙启文, 陈军, 陈明磊, 等. 高车前苷油水分分配系数的测定及大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24):193-197.
- [13] 贾媛, 马兴苗, 恽菲, 等. 金丝桃苷油水分分配系数及大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中草药, 2012, 43(5):934-939.
- [14] Wang W, Wu X, Wang L, et al. Stereoselective property of 20(S)-protopanaxadiol ocotillol type epimers affects its absorption and also the inhibition of P-glycoprotein[J]. PLoS One, 2014, 9(6):e98887.
- [15] 饶小勇, 龚明, 尹姗, 等. 白头翁皂苷 D 在大鼠肠道的吸收行为研究[J]. 中草药, 2013, 44(24):3515-3520.
- [16] 夏丽文, 董培良. 羟基积雪草苷在大鼠肠内吸收的研究[J]. 药物评价研究, 2011, 34(1):22-25.
- [17] 张玉芝, 杨中林. 续断总皂苷磷脂复合物制备工艺及大鼠在体肠吸收研究[J]. 中成药, 2008, 30(7):972-975.
- [18] 黄怀鹏, 刘彩霞, 李艳玲, 等. 黄芪甲苷的大鼠在体肠吸收动力学的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(13):1609-1611.
- [19] Wang L, Wang C, Peng J, et al. Dioscin enhances methotrexate absorption by down-regulating MDR1 *in vitro* and *in vivo*[J]. Toxicology Applied Pharm, 2014, 277(2):146-154.
- [20] 王大为, 张基, 李沛, 等. 在体肠灌流模型研究灵仙新苷的大鼠肠吸收特性[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(7):800-803.
- [21] 谭晓斌, 贾晓斌. 刺五加苷 B 的大鼠在体肠吸收特性研究[J]. 中成药, 2008, 30(3):346-350.
- [22] Xie Y, Ren X, Pan G, et al. The assessment of absorption of periplocinin *situ* via intestinal perfusion of rats by HPLC[J]. Biomed Chromatogr, 2008, 22(2):196-201.
- [23] Martey O N K, He X, Xing H, et al. Periplocymarin is a potential natural compound for drug development: highly permeable with absence of P-glycoprotein efflux and cytochrome P450 inhibitions[J]. Biopharma Drug Dispos, 2014, 35(4):195-206.
- [24] Varm M V, Kapoor N, Sarkar M, et al. Simultaneous determination of digoxin and permeability markers in rat *in situ* intestinal perfusion samples by RP-HPLC[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 813(1/2):347-352.
- [25] Zhou W, Qin K M, Shan J J, et al. Improvement of intestinal absorption of forsythoside A in weeping forsythia extract by various absorption enhancers based on tight junctions[J]. Phytomedicine, 2012, 20(1):47-58.
- [26] He Y, Liu X, Liu X, et al. Sodium-dependent glucose transporter was involved in salidroside absorption in intestine of rats[J]. Chin J Nat Med, 2009, 7(6):444-448.
- [27] 曹颖, 李永吉, 吕邵娃, 等. 丁香苦苷大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10):1487-1490.
- [28] 李沉纹, 罗明和, 李卓恒, 等. 牛蒡子苷大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中草药, 2013, 44(6):727-730.
- [29] Li H, Dong L, Liu Y, et al. Biopharmaceutics classification of puerarin and comparison of perfusion approaches in rats[J]. Int J Pharm, 2014, 466(1/2):133-138.
- [30] Zhou P, Li L, Luo S, et al. Intestinal absorption of luteolin from peanut hull extract is more efficient than that from individual pure luteolin[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(1):296-300.
- [31] Chen Z, Tu M, Sun S, et al. The exposure of luteolin is much lower than that of apigenin in oral administration of Flos Chrysanthemi extract to rats[J]. Drug Metab Pharmacokinet, 2012, 27(1):162-168.
- [32] 吴益平, 霍美蓉, 周建平. 水飞蓟素-两性壳聚糖胶束的制备及其大鼠在体肠吸收[J]. 药学学报, 2009, 44(6):651-657.
- [33] Yao J, Lu Y, Zhou J P. Preparation of nobiletin in self-microemulsifying systems and its intestinal permeability in rats[J]. J Pharm Pharm Sci, 2008, 11(3):22-29.
- [34] Cao F, Zhang H, Guo J, et al. Mrp2-related efflux of scutellarin in the intestinal absorption in rats[J]. Pharmazie, 2008, 63(1):75-80.
- [35] Jiang C P, He X, Yang X L, et al. Intestinal absorptive transport of Genkwanin from Flos genkwa using a single-pass intestinal perfusion rat model[J]. Am J Chin Med, 2014, 42(2):349-359.
- [36] 吕鹏, 卞广兴, 温利青, 等. 甘草素在体肠吸收及体外血脑屏障通透性研究[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(8):661-666.
- [37] 苏红, 王新春, 黄志巧, 等. 单向灌流法研究异甘草素在大鼠体肠吸收[J]. 中成药, 2010, 32(11):1908-1910.
- [38] 李见春. 汉黄芩素吸收及代谢机制的研究[D]. 合肥:安徽医科大学, 2010.
- [39] 马燕, 林宝琴, 李卫中, 等. 柚皮素大鼠在体肠吸收动力学的研究[J]. 中成药, 2012, 34(8):1487-1491.
- [40] Zhang Z, Chen Y, Deng J, et al. Solid dispersion of berberine-phospholipid complex/TPGS 1000/SiO₂: preparation, characterization and *in vivo* studies[J]. Int J Pharm, 2014, 465(1/2):306-316.

- [41] Yang C, Zhang T, Li Z, et al. P-glycoprotein is responsible for the poor intestinal absorption and low toxicity of oral aconitine: *In vitro*, *in situ*, *in vivo* and *in silico* studies [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 273(3):561-568.
- [42] Yu S, Yu Y, Liu L, et al. Increased plasma exposures of five protoberberine alkaloids from *Coptidis Rhizoma* in streptozotocin-induced diabetic rats; is P - GP involved? [J]. *Planta Medica*, 2010, 76(9):876-881.
- [43] Lu Y, Bao N, Borjihan G, et al. Contribution of carboxylesterase in hamster to the intestinal first-pass loss and low bioavailability of ethyl piperate, an effective lipid-lowering drug candidate [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(5):796-802.
- [44] 马小花, 魏玉辉, 王丹, 等. 苦参碱大鼠肠吸收动力学研究 [J]. *中成药*, 2011, 33(10):1695-1699.
- [45] 王素军, 王广基, 李晓天, 等. 氧化苦参碱大鼠肠道吸收机理及吸收部位的研究 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2005, 10(12):1326-1329.
- [46] 李煦颖. 青藤碱的肠吸收特性及药动学研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2010.
- [47] 陈亚平, 王柏. 盐酸麻黄碱的大鼠肠吸收研究 [J]. *药学进展*, 2010, 34(7):319-323.
- [48] 王丹, 魏玉辉, 张帆, 等. 拉马宁碱的大鼠在体肠吸收机制研究 [J]. *中成药*, 2012, 34(5):828-831.
- [49] Dackson K, Stone J A, Palin K J, et al. Evaluation of the mass balance assumption with respect to the two-resistance model of intestinal absorption by using *in situ* single-pass intestinal perfusion of theophylline in rats [J]. *J Pharm Sci*, 1992, 81(4):321-325.
- [50] Dahan A, Sabit H, Amidon G L. Multiple efflux pumps are involved in the transepithelial transport of colchicine; combined effect of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein 2 leads to decreased intestinal absorption throughout the entire small intestine [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(10):2028-2036.
- [51] Guo M, Rong W, Hou J, et al. Mechanisms of chitosan-coated poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for improving oral absorption of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin [J]. *Nanotechnology*, 2013, 24(24):245101.
- [52] Ye L, Lu L, Li Y, et al. Potential role of ATP-binding cassette transporters in the intestinal transport of rhein [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58:301-305.
- [53] 王进荣, 王平, 杨永茂, 等. 单向灌注法评价芦荟大黄素大鼠体内肠吸收的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(17):2393-2398.
- [54] Zhang J, Huang M, Guan S, et al. A mechanistic study of the intestinal absorption of cryptotanshinone, the major active constituent of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 317(3):1285-1294.
- [55] Yu X Y, Zhou Z W, Lin S G, et al. Role of ATP-binding cassette drug transporters in the intestinal absorption of tanshinone IIB, one of the major active diterpenoids from the root of [J]. *Xenobiotica*, 2007, 37(4):375-415.
- [56] 张艳, 王平, 王进荣, 等. 在体单向肠灌注模型研究大黄素的大鼠肠吸收特性 [J]. *中药新药与临床药理*, 2012, 23(3):286-290.
- [57] 刘恒戈, 苏红, 王新春, 等. 紫草素微乳改善大鼠小肠吸收的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5):129-132.
- [58] Shashikanth P, Chandra Mohan P, Karunakar K, et al. Paclitaxel disposition studies using P-gp inhibitor & inducer by single pass intestinal perfusion in rats. [J]. *Asian J Pharm Clin Res*, 2014, 7(1):199-203, 205.
- [59] Ye L, Wang T, Tang L, et al. Poor oral bioavailability of a promising anticancer agent andrographolide is due to extensive metabolism and efflux by P-glycoprotein [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(11):5007-5017.
- [60] Cao F, Gao Y, Wang M, et al. Propylene glycol-linked amino acid/dipeptide diester prodrugs of oleanolic acid for PepT1-mediated transport: synthesis, intestinal permeability, and pharmacokinetics [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(4):1378-1387.
- [61] 高旭, 王亚静, 皮佳鑫, 等. 补骨脂酚大鼠在体肠吸收动力学研究 [J]. *中成药*, 2013, 35(10):2122-2125.
- [62] 薛璟, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤甲素大鼠在体肠吸收特性研究 [J]. *中草药*, 2010, 41(1):86-89.
- [63] 林杭娟. 熊果酸自微乳的制备及评价 [D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [64] 陆慧, 贾晓斌, 韦英杰, 等. 灵芝三萜表观油水分配系数的测定及其在体肠吸收 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(21):12-16.
- [65] 毕肖林, 李瑶瑶, 杜秋, 等. 绿原酸表观油水分配系数测定及在体肠吸收动力学研究 [J]. *南京中医药大学学报*, 2013, 29(6):572-575.
- [66] 王来友, 苏启表, 毕惠嫦, 等. 大鼠在体肠灌注模型中补骨脂素的吸收研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2007, 38(3):265-268.
- [67] 杜秋, 狄留庆, 单进军, 等. 在体单向肠灌注模型研究瑞香素的大鼠肠吸收特性 [J]. *药学学报*, 2009, 44(8):922-926.
- [68] 姜宇, 何群, 赵碧清, 等. 秦皮甲素大鼠肠吸收动力学 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(12):110-113.
- [69] 王燕, 赵娜, 李聪. 蛇床子中蛇床子素的大鼠单向肠灌注研究 [J]. *陕西中医*, 2012, 33(9):1235-1237.
- [70] 卫世杰, 霍务贞, 王立宝. 吸收促进剂对水飞蓟宾及其磷脂复合物肠吸收的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(12):110-113.

- 学杂志, 2012, 18(13):43-46.
- [71] 范艳芳, 冯潜, 唐澜, 等. 野黄芩素 FVB/NCrIVr 小鼠磺酸化代谢特征研究[J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(18):1493-1497.
- [72] Wu H, Long X, Yuan F, et al. Combined use of phospholipid complexes and self-emulsifying microemulsions for improving the oral absorption of a BCS class IV compound, baicalin[J]. Acta Pharm Sin B, 2014, 4(3):217-226.
- [73] Shao B, Cui C, Ji H, et al. Enhanced oral bioavailability of piperine by self-emulsifying drug delivery systems; *in vitro*, *in vivo* and *in situ* intestinal permeability studies[J]. Drug Deliv, 2015, 22(6):740-747.
- [74] 吴青青, 陈彦, 辛然, 等. 甘草主成分及其提取物肠吸收差异的多元化分析[J]. 药学学报, 2012, 47(5):657-663.
- [75] Li C, Zhang L, Zhou L, et al. Comparison of intestinal absorption and disposition of structurally similar bioactive flavones in Radix Scutellariae[J]. AAPS J, 2012, 14(1):23-34.
- [76] You H, Xing J, Lu J, et al. Influence of the gastrointestinal microflora and efflux transporters on the absorption of scutellarin and scutellarein[J]. Phytother Res, 2014, 28(9):1295-1300.
- [77] 蔡凝芳. 补肺活血胶囊中黄芪的物质基础研究[D]. 长沙:中南大学, 2010.
- [78] Liang X, Liao Z, Zhu J, et al. The absorption characterization effects and mechanism of Radix Angelicae dahuricae extracts on baicalin in Radix Scutellariae using *in vivo* and *in vitro* absorption models[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139(1):52-57.
- [79] Zhang J, Liao W, He Y, et al. Study on intestinal absorption and pharmacokinetic characterization of diester diterpenoid alkaloids in precipitation derived from Fuzi-Gancao herb-pair decoction for its potential interaction mechanism investigation [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 147(1):128-135.
- [80] 安靓, 张华, 张艺竹, 等. 采用在体单向肠灌注模型研究葛根芩连汤不同配伍组主要指标成分的肠吸收特性[J]. 药学学报, 2012, 47(12):1696-1702.
- [81] 汪汀, 冯芳. 单向灌注法评价栀子厚朴汤方剂配伍对栀子苷肠吸收的影响[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(3):177-180.
- [82] 涂瑶生, 孙冬梅, 曾晓会, 等. 黄连吴茱萸不同配比的大鼠在体肠吸收研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):116-119.
- [83] Sutton S C, Rinaldi M T, Vukovinsky K E. Comparison of the gravimetric, phenol red, and 14C-PEG-3350 methods to determine water absorption in the rat single-pass intestinal perfusion model[J]. AAPS Pharm Sci, 2001, 3(3):E25-E30.
- [84] 聂淑芳, 潘卫三, 杨星钢, 等. 对大鼠在体肠单向灌注技术中质量法的评价[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(10):1176-1179.
- [85] 黄嗣航, 龙晓英, 袁飞, 等. 酚红法和改良质量法分别研究葛根素的大鼠在体肠吸收机制[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(6):603-607.
- [86] 谭晓斌, 贾晓斌, 陈彦, 等. 在体肠灌注模型及其在中药研究中的应用[J]. 中成药, 2007, 29(11):1665-1668.
- [87] 孙冬阳, 何威, 王春毅. 芍药甘草汤治疗津亏便秘的实验研究[J]. 四川中医, 2014, 32(4):66-68.
- [88] 唐映红, 窦昌贵. 吴茱萸汤温脾止泻作用的实验研究[J]. 中药药理与临床, 1990, 6(1):6-9.
- [89] 汤光. pH 分配假说和弱电解质的扩散透膜[J]. 中国药理学杂志, 1983, 18(10):27-29.
- [90] McConnell E L, Fadda H M, Basit A W. Gut instincts: explorations in intestinal physiology and drug delivery[J]. Int J Pharm, 2008, 364(2):213-226.
- [91] Cummins C L, Salphati L, Reid M J, et al. *In vivo* modulation of intestinal CYP3A metabolism by P-glycoprotein; studies using the rat single-pass intestinal perfusion model[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003, 305(1):306-314.
- [92] 缪舒益. 大黄游离蒽醌的肠吸收动力学研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2009.
- [93] 王春晓, 曹荣月, 蔡曼玲, 等. 乌拉坦和戊巴比妥钠对手术后期饲养动物的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(21):2559-2564.
- [94] 钟伟邦, 武兆忠, 郭露萍, 等. 三种常用动物实验麻醉药对小白鼠麻醉效果比较分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2006, 9(6):633-634.
- [95] 王英红, 艾洪滨. 三种麻醉剂对大鼠离体胃肠平滑肌收缩性影响的比较研究[J]. 山东师范大学学报:自然科学版, 2005, 20(1):78-81.
- [96] 张英丰, 李玉洁, 杨庆, 等. 大鼠在体单向肠灌注法进行丹参素、丹酚酸 B 的肠吸收研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11):96-100.
- [97] 张燕. 在体单向肠灌注与 Caco-2 细胞模型研究黄连解毒汤主要指标成分及其在复方配伍环境中的肠吸收机理[D]. 南京:南京中医药大学, 2012.
- [98] 赵春顺. 3-正丁基苯酞体内药理学及脑内转运机理的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2003.
- [99] 中国人民解放军军事医学科学院军事医学资料编辑组. 国外军事医学资料. 第二分册[M]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院军事医学资料编辑组, 1972:4-7.
- [100] 吴燕川, 潘学强, 龚慕辛, 等. 吴茱萸汤对虚寒型偏头痛小鼠单胺类神经递质及一氧化氮含量的调控作用[J]. 中医学报, 2012, 27(11):1438-1442.

[责任编辑 邹晓翠]