

基于大鼠离体外翻肠囊模型研究不同粒径天麻粉的吸收特性^Δ

陈艳^{1*}, 刘帆¹, 巩仔鹏¹, 陈亭亭¹, 陶陶², 刘智³, 王爱民^{1#}(1. 贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室/省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室/民族药与中药开发应用教育部工程研究中心/药学院, 贵阳 550004; 2. 贵州省人民医院康复医学科, 贵阳 550002; 3. 贵州医科大学附属医院药剂科, 贵阳 550001)

中图分类号 R971;R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)04-0413-10

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.04.06

摘要 目的:比较不同粒径天麻粉中天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C的肠吸收特征,探讨粒径对上述成分肠吸收的影响。方法:采用大鼠外翻肠囊模型,以累积吸收量(Q)和吸收速率常数(K_a)为指标,采用超高效液相色谱-串联质谱法测定不同剂量(2.5、5、10 g/L)和不同粒径(细粉146 μm 、极细粉52 μm 、超微粉37 μm)的天麻粉中天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C在不同肠段(十二指肠、空肠、回肠、结肠)中的吸收情况。结果:2.5 g/L天麻极细粉中天麻素和巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(全肠段),巴利森苷C的 Q 值(结肠)和 K_a 值(回肠、结肠);2.5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(全肠段),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(十二指肠、空肠、回肠),巴利森苷C的 K_a 值(结肠);5 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 值(十二指肠),巴利森苷A和巴利森苷B的 Q 值(全肠段),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠、空肠);5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(十二指肠、空肠、结肠)和 K_a 值(全肠段),巴利森苷B的 Q 值(十二指肠、回肠、结肠),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠、回肠);10 g/L天麻极细粉中巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠),巴利森苷C的 Q 值(空肠、回肠)以及10 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(结肠)和 K_a 值(十二指肠),巴利森苷B的 Q 值(十二指肠、回肠、结肠)和 K_a 值(十二指肠、结肠),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠、回肠)和 K_a 值(十二指肠)均较同剂量天麻细粉显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。2.5 g/L天麻极细粉中巴利森苷A的 K_a 值(空肠),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠);2.5 g/L天麻超微粉中巴利森苷A的 K_a 值(空肠、回肠),巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(十二指肠、空肠);5 g/L天麻极细粉中天麻素的 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷A的 K_a 值(结肠),巴利森苷B的 K_a 值(回肠),巴利森苷C的 K_a 值(空肠、回肠);5 g/L天麻超微粉中天麻素和巴利森苷C的 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷A的 Q 值(空肠、结肠)和 K_a 值(结肠),巴利森苷B的 K_a 值(空肠、回肠);10 g/L天麻极细粉中巴利森苷A的 Q 、 K_a 值(回肠);10 g/L天麻超微粉中巴利森苷A的 Q 值(十二指肠)和 K_a 值(空肠),巴利森苷C的 K_a 值(空肠)均较同剂量天麻细粉显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。2.5 g/L天麻细粉中天麻素的 Q 值(结肠),巴利森苷A的 Q 值(结肠)和 K_a 值(回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(空肠、结肠),巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠);2.5 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(结肠),巴利森苷A的 Q 值(回肠、结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷C的 K_a 值(结肠);2.5 g/L天麻超微粉中巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 值(结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠);5 g/L天麻细粉中天麻素、巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(结肠),巴利森苷B的 K_a 值(结肠);5 g/L天麻极细粉中天麻素和巴利森苷A的 Q 、 K_a 值(结肠),巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠);5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠),巴利森苷A的 Q 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(空肠、结肠),巴利森苷C的 Q 值(空肠、结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠);10 g/L天麻细粉中天麻素的 Q 值(结肠)以及巴利森苷A、巴利森苷B、巴利

肌缺血再灌注损伤后心肌细胞凋亡的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6): 1380-1384.

[15] 余雪, 余恒, 周涛, 等. 缺血预适应对脑梗死患者疗效及血清凋亡相关因子水平的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(5): 446-449.

[16] 智凤, 徐日新. 改善冠心病患者低密度脂蛋白胆固醇的研究进展[J]. 实用临床医药杂志, 2018, 22(24): 137-140.

[17] 严家荣, 梁志健, 王弋, 等. 两种高脂高糖乳脂配方复制高脂血症大鼠模型比较[J]. 动物医学进展, 2017, 38(10): 38-42.

[18] PATEL JV, CASLAKE MJ, VYAS A, et al. Triglycerides and small dense low density lipoprotein in the discrimination of coronary heart disease risk in south Asian populations[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 209(2): 579-584.

[19] 朱艳彬, 朱伟群. HDL-C与老年冠心病患者临床预后的关联性分析[J]. 重庆医学, 2018, 47(33): 4260-4262.

[20] XIE J, LI B, YAO B, et al. Transforming growth factor- β -regulated FAS/FASL pathway activation suppresses nucleus pulposus cell apoptosis in an inflammatory environment[J]. *Bioscience Rep*, 2019. DOI: 10.1042/BSR201917-26.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81560646, No. U1812403); 中央引导地方科技发展专项资金项目(No.黔科中引地[2018]4006); 贵州省科技计划项目(No.黔科合平台人才[2016]5613, No.黔科合平台人才[2016]5677); 贵阳市科技计划项目(No.筑科合同[2017]30-29号)

* 硕士研究生。研究方向: 中药新药研发及质量控制。E-mail: 1924855171@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药新药研发。电话: 0851-86908468。E-mail: gywam100@163.com

(收稿日期: 2019-07-24 修回日期: 2019-12-29)
(编辑: 段思怡)

森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠);10 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 值(结肠),巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(结肠);10 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 值(空肠、回肠、结肠)和 K_a 值(回肠、结肠)均较同组十二指肠显著降低($P < 0.05$)。2.5 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(空肠),2.5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(空肠、回肠)和 K_a 值(空肠),5 g/L天麻细粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠);2.5 g/L天麻极细粉中巴利森苷B的 Q 值(空肠、回肠)和 K_a 值(空肠),5 g/L天麻细粉中巴利森苷B的 K_a 值(空肠、回肠),10 g/L天麻极细粉中巴利森苷B的 K_a 值(回肠)均较同组十二指肠显著升高($P < 0.05$)。5 g/L以及10 g/L天麻细粉、极细粉、超微粉中天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(全肠段)均较同肠段同粒径2.5 g/L天麻粉显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:天麻中的4种有效成分在4个肠段均有吸收,且主要集中于小肠。天麻中的天麻素可能为被动吸收,巴利森苷类则可能为主动转运;粒径可影响上述4种有效成分的肠吸收特性。

关键词 天麻;粒径;外翻肠囊模型;吸收特性;天麻素;巴利森苷类

Study on Absorption Characteristics of *Gastrodia elata* Powder with Different Particle Sizes Based on Rat Everted Intestinal Sac Model *in vitro*

CHEN Yan¹, LIU Fan¹, GONG Zipeng¹, CHEN Tingting¹, TAO Tao², LIU Zhi³, WANG Aimin¹ (1. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics & State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants & Guizhou Provincial Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM & School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Dept. of Rehabilitation Medicine, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, China; 3. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550001, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To compare the absorption characteristics of gastrodin, parishin A, parishin B and parishin C of *Gastrodia elata* powder, and to explore the effect of particle size on intestinal absorption of above components. **METHODS:** Based on everted intestinal sac model, using accumulative absorption amount (Q) and absorption rate constant (K_a) as indexes, UPLC-MS/MS method was used to determine the absorption of gastrodin, parishin A, parishin B and parishin C from different doses (2.5, 5, 10 g/L) of *G. elata* powder with different particle sizes (fine powder 146 μm , superfine powder 52 μm , ultrafine powder 37 μm) in different segments (duodenum, jejunum, ileum and colon). **RESULTS:** Q and K_a of gastrodin and parishin B (intestinal segment), Q (colon) and K_a (ileum and colon) of parishin C in 2.5 g/L *G. elata* superfine powder; Q and K_a of gastrodin (intestinal segment), Q and K_a of parishin B (duodenum, jejunum, ileum) and K_a of parishin C (colon) in 2.5 g/L *G. elata* ultrafine powder; Q of gastrodin (duodenum), Q of parishin A and parishin B (intestinal segment) and Q of parishin C (duodenum, jejunum) in 5 g/L *G. elata* superfine powder; Q (duodenum jejunum, colon) and K_a (intestinal segment) of gastrodin, Q of parishin B (duodenum, ileum and colon) and Q of parishin C (duodenum, ileum) in 5 g/L *G. elata* ultrafine powder; Q and K_a of parishin B (jejunum, ileum), Q of parishin C (jejunum, ileum) in 10 g/L *G. elata* superfine powder as well as Q (colon) and K_a (duodenum) of gastrodin, Q (duodenum, ileum, colon) and K_a (duodenum, colon) of parishin B, Q (duodenum, ileum) and K_a (duodenum) of parishin C in 10 g/L *G. elata* ultrafine powder were all increased significantly, compared with the same dose of *G. elata* fine powder ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). K_a of parishin A (jejunum) and Q of parishin C (duodenum) in 2.5 g/L *G. elata* superfine powder; K_a of parishin A (jejunum, ileum), Q and K_a of parishin C (duodenum, jejunum) in 2.5 g/L *G. elata* ultrafine powder; K_a of gastrodin (jejunum, ileum and colon), K_a of parishin A (colon), K_a of parishin B (ileum) and K_a of parishin C (jejunum, ileum) in 5 g/L *G. elata* superfine powder; K_a of gastrodin and parishin C (jejunum, ileum and colon), Q (jejunum, colon) and K_a (colon) of parishin A, K_a of parishin B (jejunum, ileum) in 5 g/L *G. elata* ultrafine powder; Q and K_a of parishin A (ileum) in 10 g/L *G. elata* superfine powder; Q (duodenum) and K_a (jejunum) of parishin A, K_a of parishin C (jejunum) in 10 g/L *G. elata* ultrafine powder were decreased significantly, compared with the same dose of *G. elata* fine powder ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Q of gastrodin (colon), Q (colon) and K_a (ileum, colon) of parishin A, Q and K_a of parishin B (jejunum, colon), Q and K_a of parishin C (ileum, colon) in 2.5 g/L *G. elata* fine powder; Q and K_a of gastrodin (colon), Q (ileum, colon) and K_a (jejunum, ileum, colon) of parishin A, K_a of parishin C (colon) in 2.5 g/L *G. elata* superfine powder; Q (colon) and K_a (jejunum, ileum, colon) of parishin A and C, Q and K_a (ileum, colon) of parishin B in 2.5 g/L *G. elata* ultrafine powder; Q and K_a of gastrodin, parishin A and C (colon), K_a of parishin B (colon) in 5 g/L *G. elata* fine powder; Q and K_a of gastrodin and parishin A (colon), Q and K_a of parishin C (jejunum, ileum, colon) in 5 g/L *G. elata* superfine powder; Q and K_a of gastrodin (ileum, colon), Q of parishin A (jejunum, ileum, colon), Q and K_a of parishin B (jejunum, colon), Q (jejunum, colon) and K_a (jejunum, ileum, colon) of parishin C in 5 g/L *G. elata* ultrafine powder; Q of gastrodin (colon), Q and K_a of parishin A, B and C (jejunum, ileum, colon) in 10 g/L *G. elata* fine powder; Q of gastrodin (colon), Q and K_a of parishin A and C (jejunum, ileum, colon), Q and K_a of parishin B (colon) in 10 g/L *G. elata* superfine powder; Q (colon) and K_a (jejunum, ileum, colon) of gastrodin, Q and K_a of parishin A and C (jejunum, ileum, colon), Q (jejunum, ileum, colon) and K_a (ileum, colon) of parishin B in

10 g/L *G. elata* ultrafine powder were decreased significantly, compared with duodenum of the same group ($P < 0.05$). Q and K_a of gastrodin (jejunum) in 2.5 g/L *G. elata* superfine powder, Q (jejunum, ileum) and K_a (jejunum) of gastrodin in 2.5 g/L *G. elata* ultrafine powder, Q and K_a of gastrodin (jejunum, ileum) in 5 g/L *G. elata* fine powder; Q (jejunum, ileum) and K_a (jejunum) of parishin B in 2.5 g/L *G. elata* superfine powder, K_a of parishin B (jejunum, ileum) in 5 g/L *G. elata* superfine powder, K_a of parishin B (ileum) in 10 g/L *G. elata* superfine powder were increased significantly, compared with duodenum of the same group ($P < 0.05$). Q and K_a of gastrodin, parishin A, B and C (intestinal segment) in 5 and 10 g/L *G. elata* fine, superfine and ultrafine powder were increased significantly, compared with 2.5 g/L *G. elata* powder with same particle size in same intestinal segment ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). CONCLUSIONS: The four active components of *G. elata* are absorbed in four intestinal segments and mainly concentrate in the small intestine. The gastrodin of *G. elata* may be absorbed passively, while the balisensides may be transported actively. The particle size can affect the intestinal absorption characteristics of the four active components.

KEYWORDS *Gastrodia elata*; Particle size; Everted intestinal sac model; Absorption characteristics; Gastrodin; Balisensides

天麻为兰科植物天麻(*Gastrodia elata* Bl.)的干燥块茎^[1],在《神农本草经》中被列为草本上品,是我国传统名贵中药材。天麻药用历史悠久,主产于我国贵州、云南、湖北等地,是中医治疗神经系统疾病的常用药材,主要用于头痛眩晕、肢体麻木、癫痫等症的临床治疗^[2-3]。

超微粉[粒径范围是1~75 μm ,粒度分布中心(D_{50})为10~15 μm]是经超微粉碎技术将原料药加工所得的微米甚至纳米级微粉^[4]。超微粉碎技术是近年不断发展的一项新兴技术,因具有原材料用量少、药物溶出度高等优点,其在中药领域具有特有的优势和广阔的应用前景^[5]。药用有效成分主要存在于细胞内,完整的细胞壁和细胞膜对药材有效成分的释放会造成阻碍,而应用超微粉碎技术将细胞打破,可使细胞壁/膜与胞内成分分离,从而使得有效成分可直接接触溶媒而溶出,进而达到用药剂剂量更小、生物利用度更高、药物作用发挥更迅速、药效更强的目的^[6-7]。本课题组建立了同时测定天麻中天麻素、巴利森昔A、巴利森昔B、巴利森昔C、对羟基苯甲醛、对羟基苯甲醇等多指标含量的高效液相色谱法^[8-10],并对天麻普通粉及超微粉进行了研究。结果显示,天麻超微粉对脑缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用较普通粉(100目,粒径:150 μm)更加明显^[11]。天麻在脑疾病的治疗中具有独特且显著的疗效^[12-15],目前研究者普遍关注的是天麻素及其相关制剂^[16],而有关天麻中多种活性成分的体内外肠吸收特征研究则相对薄弱。鉴于此,本研究在前期实验的基础上,建立了测定天麻素、巴利森昔A、巴利森昔B、巴利森昔C等4种指标性成分质量浓度的超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS),并利用离体外翻肠囊模型考察了不同粒径天麻粉中上述4种成分的体外肠吸收特征,初步探讨了粒径对天麻成分肠吸收的影响,以期超微粉碎技术在天麻制剂研发中的应用以及相关新制剂的开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Ultimate 3000型超高效液相色谱-TSQ Quantum型

三重四极杆串联质谱,配有电喷雾离子源(ESI)、LC Qua 4.0.27.42数据处理系统(美国Thermo Fisher Scientific公司);EL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];DK-92-II A型恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);VX-III型涡旋振荡器[藤锦(北京)医药科技有限公司];SC082767型超纯水机(四川沃特尔水处理设备有限公司);KQ-250E型超声机(昆山市超声仪器有限公司);NA-5L型氮气空气一体机(北京中兴汇利科技发展有限公司)。

1.2 药材与试剂

天麻细粉(100目,粒径:146 μm , D_{50} :54.33 μm ,批号:2017030601)、天麻极细粉(200目,粒径:52 μm , D_{50} :18.44 μm ,批号:2017030602)、天麻超微粉(400目,粒径:37 μm , D_{50} :13.44 μm ,批号:2017030604)均购自贵州广济堂药业有限公司,经贵州医科大学药教研室龙德庆副教授鉴定为真品。

天麻素对照品(北京百灵威化学技术有限公司,批号:62499-27-8,纯度:100%);巴利森昔A对照品(批号:62499-28-9,纯度:98%);巴利森昔B对照品(批号:174972-79-3,纯度:98%);巴利森昔C对照品(批号:174972-80-6,纯度:96%)均购自成都明睿科技有限公司;葛根素对照品(内标,四川维克奇生物科技有限公司,批号:wkq17110604,纯度:98%);乙腈为色谱纯,正丁醇等其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

SPF级健康SD大鼠,雄性,体质量220~250 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,动物生产合格证号:SCXK(湘)2014-0011。本研究经贵州医科大学动物实验伦理委员会批准与同意(批准号:1702077)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 Tyrode缓冲液 称取氯化钠8.0 g、碳酸氢钠1.0 g、氯化钾0.2 g、氯化镁0.1 g、磷酸二氢钠0.05 g、氯化钙0.2 g、葡萄糖1.0 g,加少量水使其溶解(其中氯化钙需单

独溶解后再逐滴加入,葡萄糖需临用前加入),然后用水定容至1 L,即得pH为7.4的Tyrode缓冲液,备用。

2.1.2 不同粒径天麻粉供试液 分别称取天麻细粉、极细粉、超微粉适量,加入Tyrode缓冲液超声(功率:250 W,频率:80 Hz,下同)处理30 min,使其均匀分散以形成混悬液,即得质量浓度均分别为2.5、5、10 g/L(以生药量计,下同)的不同粒径天麻粉供试液,备用。

2.1.3 混合对照品溶液 分别精密称取天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C对照品适量,加甲醇溶解制得天麻素(1.052 g/L)、巴利森苷A(1.001 g/L)、巴利森苷B(0.994 g/L)、巴利森苷C(0.804 g/L)单一贮备液。分别精密量取上述单一贮备液各适量,置于同一量瓶,于37 ℃下以氮气流吹干,残渣用Tyrode缓冲液溶解并稀释至所需浓度,即得系列混合对照品溶液。上述溶液均置于-20 ℃冰箱保存,备用。

2.1.4 内标溶液 精密称取葛根素对照品适量,用甲醇溶解并定容至10 mL量瓶中,得质量浓度为1.054 g/L的内标贮备液。取上述内标贮备液适量至50 mL量瓶中,用甲醇定容,即得质量浓度为20 μg/mL的内标溶液,置于-20 ℃冰箱保存,备用。

2.1.5 空白肠液 取37 ℃ Tyrode缓冲液,按后续方法进行离体外翻肠囊试验,循环1 h,即得空白肠液。

2.2 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Synergi Hydro-RP 100(100 mm×20 mm,2.5 μm);流动相:0.1%甲酸乙腈溶液(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~2 min,5% A→20% A;2~5 min,20% A→30% A;5~5.1 min,30% A→5% A;5.1~7 min,5% A);柱温:40 ℃;流速:0.3 mL/min;进样量:10 μL。

2.3 质谱条件

电离源:ESI;鞘气流量:57.6 Arb(1 Arb=0.3 L/min,下同);辅助气流量:4 Arb;正离子喷雾电压:3 500 V,负离子喷雾电压4 900 V;毛细管温度:330 ℃;碰撞气:氩气[1.5 mTorr(1 mTorr=133.322 mPa)];采用选择反应监测(SRM)模式扫描,用于定量分析的离子对分别为 m/z (+) $304.05 \rightarrow 107.11$ (天麻素)、 m/z (-) $995.09 \rightarrow 727.11$ (巴利森苷A)、 m/z (-) $727.09 \rightarrow 423.07$ (巴利森苷B)、 m/z (-) $727.09 \rightarrow 423.07$ (巴利森苷C)、 m/z (-) $415.05 \rightarrow 267.00$ (内标)(碰撞电压分别为12、24、25、24、32 V,射频电压分别为84、298、298、298、224 V)。

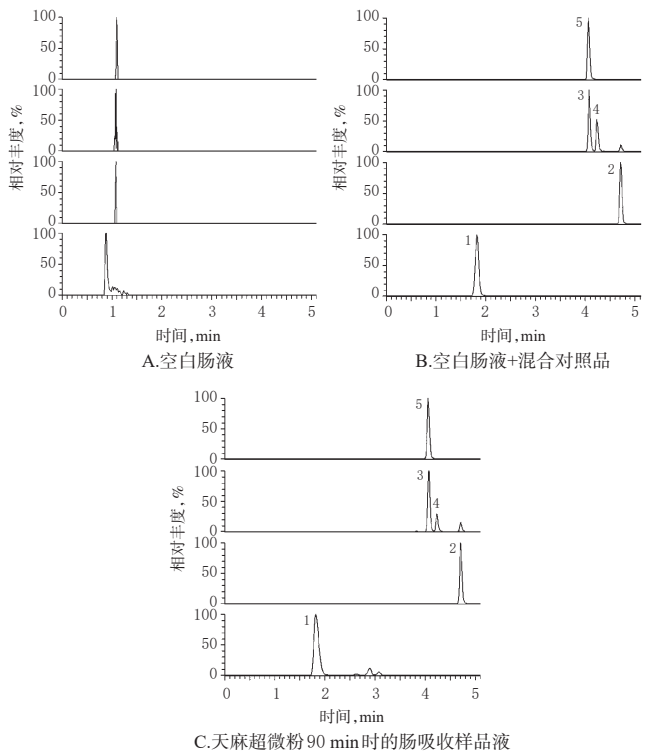
2.4 样品处理

取肠液样品200 μL,加入20 μg/mL内标溶液20 μL,涡旋混合2 min,加入水饱和的正丁醇500 μL,萃取2次,涡旋混合2 min,超声处理5 min,以12 000 r/min离心5 min;取上清液,于37 ℃下以氮气流吹干,残渣用95%

乙腈200 μL复溶,超声5 min,以12 000 r/min再次离心10 min,取上清液适量进行UPLC-MS/MS分析。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性 取空白肠液、空白肠液+混合对照品(天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C质量浓度分别为0.99、1.25、1.865、1.206 μg/mL)、天麻超微粉循环90 min时的肠吸收样品液各适量,按“2.4”项下方法处理(空白肠液不加内标)后,再按“2.2”“2.3”项下色谱与质谱条件进样分析,记录色谱图,见图1。由图1可见,天麻素等4种待测物及内标的分离度良好,且空白肠液不干扰待测物的定量分析。



注:1.天麻素;2.巴利森苷A;3.巴利森苷B;4.巴利森苷C;5.内标

Note: 1. gastrodin; 2. parishin A; 3. parishin B; 4. parishin C; 5. internal standard

图1 典型SRM图

Fig 1 Typical SRM chromatograms

2.5.2 标准曲线及定量下限、最低检测限考察 按“2.1.3”项下方法配制天麻素质量浓度分别为0.030 9、0.124、0.495、0.99、1.98、3.95、7.90、15.78、63.12 μg/mL,巴利森苷A质量浓度分别为0.039 1、0.156、0.312、0.625、1.25、2.50、5.01、10.01、40.04 μg/mL,巴利森苷B质量浓度分别为0.058 5、0.233、0.466、0.933、1.865、3.73、7.46、14.92、29.84 μg/mL,巴利森苷C质量浓度分别为0.037 7、0.151、0.302、0.603、1.206、2.413、4.825、9.65、19.30 μg/mL的系列混合对照品溶液,按“2.4”项下方法处理后,再按“2.2”“2.3”项下色谱与质谱条件进样分析,记录色谱图。以各待测物质量浓度(x ,μg/mL)为

横坐标、其峰面积与内标峰面积之比(y)为纵坐标进行线性回归,并按信噪比计算定量限与最低检测限,结果见表1。

表1 天麻中4种待测成分的回归方程、线性范围、定量下限及最低检测限

Tab 1 Regression equation, linear range, lowest limits of quantification and detection for four ingredients of *G. elata*

待测成分	回归方程	R^2	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	定量下限(信噪比 10:1), $\mu\text{g/mL}$	最低检测限(信噪比 3:1), $\mu\text{g/mL}$
天麻素	$y=5.4916x+2.3407$	0.9994	0.0309~63.12	0.0309	0.0101
巴利森苷A	$y=0.3750x-0.0592$	0.9999	0.0391~40.04	0.0391	0.0120
巴利森苷B	$y=0.0550x+0.0029$	0.9998	0.0585~29.84	0.0585	0.0282
巴利森苷C	$y=0.0454x+0.0035$	0.9995	0.0377~19.30	0.0377	0.0107

2.5.3 精密度与准确度试验 按“2.1.3”项下方法配制定量下限质量浓度(天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C分别为0.0309、0.0391、0.0585、0.0377 $\mu\text{g/mL}$ 和低、中、高质量浓度(天麻素0.39、0.99、3.95 $\mu\text{g/mL}$,巴利森苷A 0.31、0.78、3.13 $\mu\text{g/mL}$,巴利森苷B 0.47、1.17、4.66 $\mu\text{g/mL}$,巴利森苷C 0.30、0.75、3.02 $\mu\text{g/mL}$,质量浓度根据本课题组前期预试验结果确定,下同)的质控(QC)样品各5份,按“2.4”项下方法处理后,再按“2.2”“2.3”色谱与质谱条件进样分析,考察日内精密度;连续测定3 d,考察日间精密度。将实测质量浓度与理论质量浓度进行比较,考察准确度。结果,天麻素等4种待测成分的日内和日间RSD均小于8%,准确度符合生物样品定量分析的相关要求^[17]。

表2 精密度与准确度试验结果

Tab 2 Results of precision and accuracy tests

待测成分	理论质量浓度, $\mu\text{g/mL}$	日内精密度($n=5$)		日间精密度($n=15$)		准确度($\bar{x}\pm s$, $n=5$), %
		实测质量浓度 ($\bar{x}\pm s$), $\mu\text{g/mL}$	RSD, %	实测质量浓度 ($\bar{x}\pm s$), $\mu\text{g/mL}$	RSD, %	
天麻素	0.0309	0.0272±0.0024	8.82	0.0263±0.0032	12.16	88.33±8.15
	0.39	0.38±0.03	7.61	0.34±0.03	7.86	98.65±7.27
	0.99	0.99±0.04	3.63	1.15±0.06	5.10	108.69±3.02
	3.95	3.51±0.08	2.26	3.65±0.08	2.31	100.87±4.65
巴利森苷A	0.0391	0.0354±0.0041	11.58	0.0322±0.0031	9.63	90.13±7.89
	0.31	0.31±0.02	7.38	0.31±0.02	7.38	98.09±2.86
	0.78	1.13±0.04	3.83	1.30±0.08	5.96	96.52±6.47
	3.13	3.67±0.18	5.07	3.26±0.08	2.31	92.59±1.37
巴利森苷B	0.0585	0.0517±0.0043	8.32	0.0526±0.0038	7.22	87.65±9.18
	0.47	0.51±0.04	6.96	0.49±0.03	6.77	103.08±4.18
	1.17	0.99±0.07	6.89	0.92±0.05	5.60	97.23±2.16
	4.66	4.12±0.03	3.82	4.08±0.23	5.80	91.05±3.29
巴利森苷C	0.0377	0.0328±0.0029	8.84	0.0362±0.0043	11.88	86.16±7.17
	0.3	0.26±0.01	4.41	0.25±0.02	7.22	88.83±3.82
	0.75	0.72±0.01	1.75	0.74±0.05	6.21	96.29±2.28
	3.02	2.87±0.16	5.63	2.79±0.08	3.37	94.21±2.10

2.5.4 基质效应试验 取3种不同质量浓度的混合对照品溶液,于37℃下以氮气流吹干,残渣用Tyrode缓冲液200 μL 复溶,使最终质量浓度与低、中、高质量浓度QC样品一致,按“2.4”项下方法处理后进样分析,记录峰面

积(A_1)。取同样的上述3种不同质量浓度的混合对照品溶液于37℃下以氮气流吹干,残渣用初始流动相200 μL 复溶,使最终质量浓度与低、中、高质量浓度QC样品一致,按“2.4”项下方法处理后,进样分析,记录峰面积(A_2)。基质效应= $A_1/A_2\times 100\%$ 。每个质量浓度样品均平行操作5次。结果,基质效应不影响待测物的定量分析^[17],详见表3。

表3 基质效应试验结果($n=5$)

Tab 3 Results of matrix effect tests($n=5$)

待测成分	理论质量浓度, $\mu\text{g/mL}$	基质效应($\bar{x}\pm s$), %	RSD, %
天麻素	0.39	97.92±3.63	3.70
	0.99	100.67±2.13	2.12
	3.95	95.20±3.54	3.72
	0.31	101.32±1.89	1.87
巴利森苷A	0.78	97.83±8.57	7.76
	3.13	97.50±6.42	6.58
	0.47	90.97±7.23	7.95
	1.17	102.41±5.33	5.21
巴利森苷B	4.66	99.54±2.30	2.31
	0.30	99.51±6.13	4.36
	0.75	97.24±4.62	4.76
	3.02	96.97±3.09	3.19
内标	20	87.31±7.85	5.13

2.5.5 稳定性试验 按“2.1.3”项下方法配制低、中、高质量浓度的QC样品各5份,分别考察其按“2.4”项下方法处理后置于自动进样器中放置12 h以及-20℃下放置72 h、反复冻融(-20℃~室温)3次后再按“2.4”项下方法处理等条件下的稳定性。结果,各样品在上述条件下稳定性良好(RSD<11%),详见表4。

表4 稳定性试验结果($n=5$)

Tab 4 Results of stability tests($n=5$)

待测成分	理论质量浓度, $\mu\text{g/mL}$	处理后在自动进样器 放置12 h		-20℃下放置72 h 后再处理		反复冻融3次 后再处理	
		实测质量浓度 ($\bar{x}\pm s$), $\mu\text{g/mL}$	RSD, %	实测质量浓度 ($\bar{x}\pm s$), $\mu\text{g/mL}$	RSD, %	实测质量浓度 ($\bar{x}\pm s$), $\mu\text{g/mL}$	RSD, %
天麻素	0.39	0.36±0.02	5.55	0.37±0.04	10.81	0.39±0.03	7.69
	0.99	1.08±0.03	2.78	0.98±0.05	5.10	1.05±0.07	6.67
	3.95	3.87±0.04	1.03	3.79±0.18	4.75	3.82±0.12	3.14
巴利森苷A	0.31	0.32±0.03	9.37	0.33±0.03	9.09	0.29±0.03	10.34
	0.78	0.86±0.05	5.81	0.83±0.07	8.43	0.79±0.07	8.86
	3.13	3.23±0.09	2.78	3.08±0.12	3.89	2.97±0.09	3.03
巴利森苷B	0.47	0.49±0.03	6.12	0.46±0.04	8.69	0.49±0.04	8.16
	1.17	1.02±0.04	3.92	0.96±0.06	6.25	1.15±0.05	4.34
	4.66	4.34±0.13	3.23	4.58±0.31	6.76	4.03±0.16	3.97
巴利森苷C	0.31	0.28±0.03	10.71	0.32±0.03	9.37	0.26±0.02	7.69
	0.75	0.73±0.04	5.48	0.77±0.04	5.19	0.79±0.06	7.59
	3.02	2.92±0.14	4.79	3.11±0.12	3.85	2.82±0.09	2.34

2.6 不同粒径天麻粉中活性成分离体肠吸收特性研究

参照文献方法^[18-23],大鼠禁食12 h后,腹腔注射10%水合氯醛溶液(3.8 mL/kg)进行麻醉,迅速打开腹腔,剪下目标肠段,放入0℃Tyrode缓冲液中反复冲洗,直至无肠内容物。将肠管插入自制的硅胶套管中,表面用37℃Tyrode缓冲液冲洗,另一端用3/0号非吸收手术线

结扎成囊,随后放入装有 37 ℃ Tyrode 缓冲液 10 mL 的麦氏浴管中,并引入含 5% CO₂、95% O₂ 的混合气体,再注入 Tyrode 缓冲液 2 mL 于肠管内,平衡 5 min 后,将 Tyrode 缓冲液替换为“2.1.2”项下不同剂量不同粒径的天麻粉供试液 2 mL (剂量参考本课题组前期预实验结果设置)进行肠外循环。分别于循环 15、20、45、60、90、120 min 时取样 200 μL,取样后向肠囊中补充等体积的 37 ℃ Tyrode 缓冲液。取样品液按“2.4”项下方法处理后,再按“2.2”“2.3”项下色谱与质谱条件进样测定,并采用内标法计算样品中天麻素、巴利森昔 A、巴利森昔 B、巴利森昔 C 的质量浓度。随后将各肠段从试管中取出,纵向剖开,自然摊于滤纸上测量相应肠段的宽度和长度,同时计算各目标肠段(十二指肠:幽门 1 cm 至下 10 cm;空肠:幽门 15 cm 至下 10 cm;回肠:盲肠上端 20 cm

至下 10 cm;结肠:盲肠下端至下 10 cm)的吸收面积(A)。各样品均平行操作 5 次。

按如下公式计算药物累积吸收量(Q, μg)和吸收速率常数[K_a, μg/(h·cm²)]^[24-26]:

$$Q = 0.2c_n \times \frac{V_{\text{平衡}}}{V_{\text{取样}}} + 0.2 \times \sum_{i=1}^{n-1} c_i$$

式中,c_n指第 n 个时间点取样品液的实测质量浓度,c_i指第 i 次取样测得的肠内药物浓度,V_{平衡}指平衡前肠管中加入 Tyrode 缓冲液的体积,V_{取样}指每次取样的体积。将 Q 与 t 进行线性回归,得相应的斜率(L),斜率除以 A 即得 K_a。采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,P<0.05 为差异有统计学意义,结果见表 5~表 8。

表 5 不同剂量不同粒径天麻粉中天麻素在循环 120 min 时的肠吸收情况($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 5 The absorption of gastrodin in different doses of *G. elata* powder with different particle sizes at 120 min ($\bar{x} \pm s, n=5$)

剂量, g/L	肠段	天麻细粉		天麻极细粉		天麻超微粉	
		Q, μg	K _a , μg/(h·cm ²)	Q, μg	K _a , μg/(h·cm ²)	Q, μg	K _a , μg/(h·cm ²)
2.5	十二指肠	7.49 ± 1.05	0.004 0 ± 0.000 4	10.36 ± 1.16 [*]	0.006 4 ± 0.000 6 ^{**}	12.46 ± 0.64 [*]	0.009 4 ± 0.000 3 [*]
	空肠	6.88 ± 0.82	0.004 8 ± 0.000 6	14.53 ± 1.02 ^{**}	0.007 9 ± 0.000 5 ^{**}	28.22 ± 3.63 ^{**}	0.013 6 ± 0.002 5 ^{**}
	回肠	6.79 ± 1.05	0.003 9 ± 0.000 6	10.33 ± 0.66 [*]	0.006 2 ± 0.000 5 ^{**}	16.89 ± 1.09 ^{**}	0.009 1 ± 0.001 2 [*]
	结肠	4.62 ± 0.95 [#]	0.002 9 ± 0.000 3	8.27 ± 1.21 ^{**}	0.005 0 ± 0.001 1 ^{**}	10.76 ± 1.38 [*]	0.009 9 ± 0.000 9 [*]
5	十二指肠	15.71 ± 1.96 ^Δ	0.018 8 ± 0.003 3 ^Δ	21.30 ± 3.83 ^Δ	0.015 8 ± 0.003 9 ^Δ	36.89 ± 6.83 ^Δ	0.024 6 ± 0.003 3 ^Δ
	空肠	22.08 ± 1.75 ^Δ	0.028 5 ± 0.002 2 ^Δ	22.08 ± 2.38 ^Δ	0.015 1 ± 0.001 9 ^Δ	38.19 ± 7.24 ^Δ	0.021 9 ± 0.000 9 ^Δ
	回肠	22.31 ± 4.21 ^Δ	0.024 1 ± 0.004 4 ^Δ	22.46 ± 2.41 ^Δ	0.014 5 ± 0.001 7 ^Δ	21.43 ± 3.32 ^Δ	0.016 3 ± 0.003 5 ^Δ
	结肠	10.14 ± 1.82 ^Δ	0.018 2 ± 0.004 7 ^Δ	9.98 ± 1.86 ^Δ	0.011 1 ± 0.003 9 ^{**Δ}	21.74 ± 1.63 ^{**Δ}	0.014 0 ± 0.001 3 ^{**Δ}
10	十二指肠	56.31 ± 4.95 ^Δ	0.031 2 ± 0.006 3 ^Δ	58.17 ± 2.54 ^Δ	0.031 3 ± 0.003 3 ^Δ	60.53 ± 10.54 ^Δ	0.051 9 ± 0.010 5 ^{**Δ}
	空肠	50.62 ± 4.84 ^Δ	0.031 3 ± 0.005 4 ^Δ	53.08 ± 3.29 ^Δ	0.032 6 ± 0.003 6 ^Δ	57.70 ± 4.22 ^Δ	0.028 6 ± 0.004 4 ^Δ
	回肠	54.94 ± 2.33 ^Δ	0.033 2 ± 0.006 8 ^Δ	50.72 ± 3.25 ^Δ	0.033 3 ± 0.003 0 ^Δ	57.28 ± 3.97 ^Δ	0.037 0 ± 0.003 7 ^Δ
	结肠	33.39 ± 3.47 ^Δ	0.033 1 ± 0.007 2 ^Δ	39.74 ± 5.76 ^Δ	0.029 9 ± 0.005 5 ^Δ	44.92 ± 3.35 ^{**Δ}	0.032 0 ± 0.007 1 ^Δ

注:与同剂量天麻细粉比较,*P<0.05,**P<0.01;与同组十二指肠比较,#P<0.05,##P<0.01;与同肠段同粒径 2.5 g/L 天麻粉比较,^ΔP<0.05,^{ΔΔ}P<0.01

Note: vs. same dose of *G. elata* fine powder, *P<0.05, **P<0.01; vs. duodenum of same group, #P<0.05, ##P<0.01; vs. 2.5 g/L *G. elata* powder of same particle size in same segment, ^ΔP<0.05, ^{ΔΔ}P<0.01

由表 5 可见,与同剂量天麻细粉比较,2.5 g/L 天麻极细粉和超微粉中天麻素的 Q、K_a 值(全肠段),5 g/L 天麻极细粉的 Q 值(十二指肠),5 g/L 天麻超微粉的 Q 值(十二指肠、空肠、结肠)和 K_a 值(全肠段),10 g/L 天麻超微粉的 Q 值(结肠)和 K_a 值(十二指肠)均显著升高;而 5 g/L 天麻极细粉和超微粉的 K_a 值(空肠、回肠、结肠)均显著降低(P<0.05 或 P<0.01)。与同组十二指肠比较,2.5 g/L 天麻细粉的 Q 值(结肠),2.5 g/L 天麻极细粉的 Q、K_a 值(结肠),5 g/L 天麻细粉、极细粉的 Q、K_a 值(结肠),5 g/L 天麻超微粉的 Q、K_a 值(结肠、回肠),10 g/L 天麻细粉、极细粉和超微粉的 Q 值(结肠),10 g/L 天麻超微粉的 K_a 值(空肠、回肠、结肠)均显著降低;而 2.5 g/L 天麻极细粉和超微粉的 Q、K_a 值(空肠),2.5 g/L 天麻超微粉的 Q 值(回肠),5 g/L 天麻细粉的 Q、K_a 值(空肠、回肠)均显著升高

(P<0.05)。与同肠段同粒径 2.5 g/L 天麻粉比较,5 g/L 以及 10 g/L 天麻细粉、天麻极细粉、天麻超微粉的 Q、K_a 值(全肠段)均显著升高(P<0.05 或 P<0.01)。

由表 6 可见,与同剂量天麻细粉比较,2.5 g/L 天麻极细粉中巴利森昔 A 的 K_a 值(空肠),2.5 g/L 天麻超微粉的 K_a 值(空肠、回肠),5 g/L 天麻极细粉的 K_a 值(结肠),5 g/L 天麻超微粉的 Q 值(空肠、结肠)和 K_a 值(结肠),10 g/L 天麻极细粉的 Q、K_a 值(回肠),10 g/L 天麻超微粉的 Q 值(十二指肠)和 K_a 值(空肠)均显著降低(P<0.05);而 5 g/L 天麻极细粉的 Q 值(全肠段)均显著升高(P<0.05)。与同组十二指肠比较,2.5 g/L 天麻细粉的 Q 值(结肠)和 K_a 值(回肠、结肠),2.5 g/L 天麻极细粉的 Q 值(回肠、结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),2.5 g/L 天麻超微粉的 Q 值(结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),5 g/L 天麻细粉、极细

表6 不同剂量不同粒径天麻粉中巴利森昔A在循环120 min时的肠吸收情况($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 6 The absorption of parishin A in different doses of *G. elata* powder with different particle sizes at 120 min ($\bar{x} \pm s, n=5$)

剂量,g/L	肠段	天麻细粉		天麻极细粉		天麻超微粉	
		$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{cm}^2)$	$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{cm}^2)$	$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{cm}^2)$
2.5	十二指肠	12.13 ± 1.42	0.009 1 ± 0.001 0	13.50 ± 1.65	0.010 1 ± 0.000 7	11.88 ± 0.91	0.009 4 ± 0.001 2
	空肠	10.96 ± 1.17	0.009 5 ± 0.001 6	11.13 ± 1.30	0.008 7 ± 0.001 4**	11.13 ± 1.60	0.007 7 ± 0.000 2**
	回肠	10.68 ± 1.43	0.007 9 ± 0.001 1 [#]	10.49 ± 0.97 [#]	0.006 9 ± 0.000 4 [#]	10.96 ± 1.82	0.006 0 ± 0.000 6**
	结肠	6.90 ± 0.82 [#]	0.005 2 ± 0.000 5 [#]	6.75 ± 0.54 [#]	0.004 3 ± 0.000 6 [#]	7.70 ± 0.98 [#]	0.005 2 ± 0.000 8 [#]
5	十二指肠	25.57 ± 1.32 ^Δ	0.036 8 ± 0.005 3 ^Δ	41.12 ± 3.01 ^Δ	0.035 8 ± 0.006 8 ^Δ	30.04 ± 7.22 ^Δ	0.021 4 ± 0.005 2 ^Δ
	空肠	24.15 ± 3.39 ^Δ	0.034 9 ± 0.002 2 ^Δ	31.61 ± 5.98 ^Δ	0.030 9 ± 0.008 9 ^Δ	17.37 ± 2.99 ^Δ	0.013 4 ± 0.003 7 ^Δ
	回肠	22.22 ± 4.52 ^Δ	0.031 5 ± 0.008 6 ^Δ	32.14 ± 4.16 ^Δ	0.023 2 ± 0.004 3 ^Δ	22.80 ± 4.54 ^Δ	0.018 8 ± 0.003 4 ^Δ
	结肠	16.71 ± 1.29 ^Δ	0.026 6 ± 0.004 4 ^Δ	22.43 ± 5.12 ^Δ	0.018 1 ± 0.004 6 ^Δ	10.31 ± 0.95 ^Δ	0.006 1 ± 0.000 7 ^Δ
10	十二指肠	65.99 ± 9.01 ^Δ	0.054 2 ± 0.011 9 ^Δ	61.86 ± 5.22 ^Δ	0.051 4 ± 0.010 4 ^Δ	48.46 ± 7.53 ^Δ	0.043 1 ± 0.046 5 ^Δ
	空肠	35.56 ± 2.76 ^Δ	0.034 0 ± 0.004 7 ^Δ	35.56 ± 2.76 ^Δ	0.035 1 ± 0.003 7 ^Δ	37.38 ± 3.56 ^Δ	0.023 0 ± 0.002 3 ^Δ
	回肠	32.43 ± 2.35 ^Δ	0.029 1 ± 0.002 9 ^Δ	22.22 ± 2.97 ^Δ	0.019 2 ± 0.002 9 ^Δ	30.38 ± 4.52 ^Δ	0.021 8 ± 0.002 6 ^Δ
	结肠	24.17 ± 1.37 ^Δ	0.022 3 ± 0.001 4 ^Δ	22.16 ± 4.56 ^Δ	0.021 8 ± 0.005 8 ^Δ	24.76 ± 1.68 ^Δ	0.018 8 ± 0.003 5 ^Δ

注:与同剂量天麻细粉比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与同组十二指肠比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与同肠段同粒径2.5 g/L天麻粉比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$

Note: vs. same dose of *G. elata* fine powder, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. duodenum of same group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; vs. 2.5 g/L *G. elata* powder of same particle size in same segment, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$

表7 不同剂量不同粒径天麻粉中巴利森昔B在循环120 min时的肠吸收情况($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 7 The absorption of parishin B in different doses of *G. elata* powder with different particle sizes at 120 min ($\bar{x} \pm s, n=5$)

剂量,g/L	肠段	天麻细粉		天麻极细粉		天麻超微粉	
		$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{cm}^2)$	$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{cm}^2)$	$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{cm}^2)$
2.5 g/L	十二指肠	2.89 ± 0.46	0.002 0 ± 0.000 5	3.97 ± 0.30 [*]	0.002 9 ± 0.000 2 [*]	5.45 ± 0.34 [*]	0.004 1 ± 0.000 3 [*]
	空肠	1.78 ± 0.33 [#]	0.001 3 ± 0.000 2 [#]	5.36 ± 0.86 ^{##}	0.004 3 ± 0.000 9 ^{##}	5.58 ± 0.55 [*]	0.004 1 ± 0.000 8 ^{**}
	回肠	2.64 ± 0.57	0.001 8 ± 0.000 6	4.74 ± 0.71 ^{##}	0.002 6 ± 0.000 3 [*]	3.14 ± 0.25 [#]	0.002 1 ± 0.000 3 [#]
	结肠	1.38 ± 0.18 [#]	0.000 9 ± 0.000 2 [#]	4.18 ± 0.62 [*]	0.002 8 ± 0.000 4 [*]	4.49 ± 0.70 ^{##}	0.003 2 ± 0.000 4 ^{##}
5 g/L	十二指肠	8.70 ± 1.73 ^Δ	0.012 5 ± 0.004 2 ^Δ	14.93 ± 0.60 ^Δ	0.011 8 ± 0.002 9 ^Δ	19.57 ± 3.83 ^Δ	0.015 7 ± 0.003 1 ^Δ
	空肠	10.23 ± 1.42 ^Δ	0.016 9 ± 0.003 0 ^Δ	17.16 ± 3.34 ^Δ	0.015 0 ± 0.002 7 ^Δ	11.60 ± 0.98 ^Δ	0.010 5 ± 0.001 4 ^Δ
	回肠	11.78 ± 1.91 ^Δ	0.016 5 ± 0.000 8 ^Δ	15.34 ± 1.85 ^Δ	0.012 6 ± 0.002 9 ^Δ	17.74 ± 4.60 ^Δ	0.012 7 ± 0.001 8 ^Δ
	结肠	5.98 ± 0.71 ^Δ	0.008 5 ± 0.001 8 ^Δ	11.01 ± 2.53 ^Δ	0.008 6 ± 0.002 1 ^Δ	10.82 ± 2.69 ^Δ	0.007 3 ± 0.001 7 ^Δ
10 g/L	十二指肠	22.65 ± 3.52 ^Δ	0.018 2 ± 0.004 3 ^Δ	24.40 ± 2.70 ^Δ	0.018 4 ± 0.003 5 ^Δ	35.10 ± 2.51 ^Δ	0.031 8 ± 0.002 6 ^Δ
	空肠	11.48 ± 0.64 ^Δ	0.011 1 ± 0.001 3 ^Δ	23.63 ± 2.16 ^Δ	0.019 9 ± 0.004 2 ^Δ	14.52 ± 2.01 ^Δ	0.008 6 ± 0.001 3 ^Δ
	回肠	13.35 ± 2.22 ^Δ	0.011 7 ± 0.001 5 ^Δ	22.26 ± 4.49 ^Δ	0.024 4 ± 0.005 3 ^Δ	25.37 ± 5.19 ^Δ	0.016 7 ± 0.002 4 ^Δ
	结肠	15.01 ± 3.41 ^Δ	0.010 7 ± 0.002 0 ^Δ	18.00 ± 2.14 ^Δ	0.014 4 ± 0.003 2 ^Δ	20.26 ± 2.02 ^Δ	0.014 7 ± 0.002 9 ^Δ

注:与同剂量天麻细粉比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与同组十二指肠比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与同肠段同粒径2.5 g/L天麻粉比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$

Note: vs. same dose of *G. elata* fine powder, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. duodenum of same group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; vs. 2.5 g/L *G. elata* powder of same particle size in same segment, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$

粉的 Q 、 K_a 值(结肠),5 g/L天麻超微粉的 Q 值(空肠、回肠、结肠),10 g/L天麻细粉、极细粉和超微粉的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠)均显著降低($P < 0.05$)。与同肠段同粒径2.5 g/L天麻粉比较,5 g/L以及10 g/L天麻细粉、天麻极细粉、天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(全肠段)均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

由表7可见,与同剂量天麻细粉比较,2.5 g/L天麻极细粉中巴利森昔B的 Q 、 K_a 值(全肠段),2.5 g/L天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(十二指肠、空肠、回肠),5 g/L天麻极细粉的 Q 值(全肠段),5 g/L天麻超微粉的 Q 值(十二指肠、回肠、结肠),10 g/L天麻极细粉的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠),10 g/L天麻超微粉的 Q 值(十二指肠、回肠、结肠)和 K_a

值(十二指肠、结肠)均显著升高($P < 0.05$);而5 g/L天麻极细粉的 K_a 值(回肠)以及5 g/L天麻超微粉 K_a 值(空肠、回肠)均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与同组十二指肠比较,2.5 g/L天麻细粉的 Q 、 K_a 值(空肠、结肠),2.5 g/L天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠),5 g/L天麻细粉的 K_a 值(结肠),5 g/L天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(空肠、结肠),10 g/L天麻细粉的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠)、10 g/L天麻极细粉的 Q 、 K_a 值(结肠),10 g/L天麻超微粉的 Q 值(空肠、回肠、结肠)和 K_a 值(回肠、结肠)均显著降低($P < 0.05$);而2.5 g/L天麻极细粉的 Q 值(空肠、回肠)和 K_a 值(空肠),5 g/L天麻细粉的 K_a 值(空肠、回肠),10 g/L天麻极细粉的 K_a 值(回肠)均显著升高($P < 0.05$)。与同肠段

表8 不同剂量不同粒径天麻粉中巴利森昔C在循环120 min时的肠吸收情况($\bar{x} \pm s, n=5$)Tab 8 The absorption of parishin C in different doses of *G. elata* powder with different particle sizes at 120 min ($\bar{x} \pm s, n=5$)

剂量, g/L	肠段	天麻细粉		天麻极细粉		天麻超微粉	
		$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$	$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$	$Q, \mu\text{g}$	$K_a, \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$
2.5	十二指肠	1.62±0.26	0.001 2±0.000 1	1.30±0.23 [*]	0.001 1±0.000 1	1.18±0.15 [*]	0.000 9±0.000 1 [*]
	空肠	1.68±0.16	0.001 1±0.000 2	1.51±0.12	0.001 1±0.000 2	0.95±0.12 [*]	0.000 6±0.000 1 ^{**}
	回肠	1.15±0.28 [#]	0.000 6±0.000 1 [#]	1.35±0.16	0.000 9±0.000 1 [*]	1.26±0.24	0.000 6±0.000 1 [#]
	结肠	0.79±0.21 [#]	0.000 3±0.000 1 [#]	1.34±0.20 [*]	0.000 7±0.000 1 ^{**}	0.70±0.04 [#]	0.000 6±0.000 1 ^{**}
5	十二指肠	3.78±0.19 ^Δ	0.005 5±0.001 2 ^Δ	6.94±1.53 ^{ΔΔΔ}	0.005 5±0.001 0 ^Δ	7.21±1.79 ^{ΔΔ}	0.005 8±0.001 8 ^Δ
	空肠	3.71±0.58 ^Δ	0.005 8±0.001 0 ^Δ	5.43±0.58 ^{ΔΔΔ}	0.004 0±0.000 4 ^{ΔΔΔ}	3.79±0.42 ^{ΔΔ}	0.003 2±0.000 5 ^{ΔΔΔ}
	回肠	3.58±0.87 ^Δ	0.004 8±0.001 6 ^Δ	3.82±0.31 ^{ΔΔ}	0.003 0±0.000 5 ^{ΔΔΔ}	6.34±1.19 ^{ΔΔ}	0.003 8±0.000 5 ^{ΔΔΔ}
	结肠	2.27±0.18 ^{ΔΔ}	0.003 3±0.000 3 ^{ΔΔ}	2.73±0.55 ^{ΔΔ}	0.002 1±0.000 5 ^{ΔΔ}	2.95±0.31 ^{ΔΔ}	0.002 0±0.000 3 ^{ΔΔΔ}
10	十二指肠	12.63±1.12 ^{ΔΔΔ}	0.010 7±0.002 0 ^{ΔΔ}	12.55±0.88 ^{ΔΔ}	0.009 6±0.002 0 ^Δ	16.19±2.17 ^{ΔΔΔ}	0.015 9±0.002 5 ^{ΔΔΔ}
	空肠	7.03±1.09 ^{ΔΔ}	0.006 9±0.001 5 ^{ΔΔ}	9.58±1.62 ^{ΔΔΔ}	0.007 3±0.000 9 ^{ΔΔ}	7.18±0.64 ^{ΔΔ}	0.004 4±0.000 5 ^{ΔΔΔ}
	回肠	5.54±0.54 ^{ΔΔ}	0.004 9±0.000 7 ^{ΔΔ}	7.67±0.69 ^{ΔΔΔ}	0.006 6±0.000 7 ^{ΔΔ}	7.33±0.63 ^{ΔΔΔ}	0.005 0±0.000 5 ^{ΔΔ}
	结肠	4.58±0.97 ^{ΔΔ}	0.004 0±0.000 7 ^{ΔΔ}	4.81±0.83 ^{ΔΔ}	0.004 5±0.000 5 ^{ΔΔ}	5.20±0.77 ^{ΔΔ}	0.003 4±0.000 8 ^{ΔΔ}

注:与同剂量天麻细粉比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与同组十二指肠比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$;与同粒径同肠段2.5 g/L天麻粉比较, Δ $P<0.05$, ΔΔ $P<0.01$

Note: vs. same dose of *G. elata* fine powder, $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. duodenum of same group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$; vs. 2.5 g/L *G. elata* powder of same particle size in same segment, Δ $P<0.05$, ΔΔ $P<0.01$

同粒径2.5 g/L天麻粉比较, 5 g/L以及10 g/L天麻细粉、天麻极细粉、天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(全肠段)均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

由表8可见,与同剂量天麻细粉比较,2.5 g/L天麻极细粉中巴利森昔C的 Q 值(结肠)和 K_a 值(回肠、结肠),2.5 g/L天麻超微粉的 K_a 值(结肠),5 g/L天麻极细粉的 Q 值(十二指肠、空肠),5 g/L天麻超微粉的 Q 值(十二指肠、回肠),10 g/L天麻极细粉的 Q 值(空肠、回肠),10 g/L天麻超微粉的 Q 值(十二指肠、回肠)和 K_a 值(十二指肠)均显著升高($P<0.05$);而2.5 g/L天麻极细粉的 Q 值(十二指肠),2.5 g/L天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(十二指肠、空肠),5 g/L天麻极细粉的 K_a 值(空肠、回肠),5 g/L天麻超微粉的 K_a 值(空肠、回肠、结肠),10 g/L天麻超微粉的 K_a 值(空肠)均显著降低($P<0.05$)。与同组十二指肠比较,2.5 g/L天麻细粉的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠),2.5 g/L天麻极细粉的 K_a 值(结肠),2.5 g/L天麻超微粉 Q 值(结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),5 g/L天麻细粉的 Q 、 K_a 值(结肠),5 g/L天麻极细粉的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠)、5 g/L天麻超微粉的 Q 值(空肠、结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),10 g/L天麻细粉、极细粉和超微粉的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠)均显著降低($P<0.05$)。与同肠段同粒径2.5 g/L天麻粉比较,5 g/L以及10 g/L天麻细粉、天麻极细粉、天麻超微粉的 Q 、 K_a 值(全肠段)均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

随着时代的进步和社会的发展,人们对健康的关注度越来越高,对中药应用及其质量要求也越来越严格,传统的中药加工方法已不能满足现代民众的用药需求^[27]。近年来新兴的中药超微粉碎技术可将药材微粉

化,加快有效成分的溶出,从而提高中药材的利用率和生物利用度,以保证药效的充分发挥,并有助于药材资源的节约。该技术不仅对中药资源保护具有重要意义,而且在制剂改良及新给药途径开发等方面也具有广阔的应用前景^[28-29]。

本研究首先建立了同时测定天麻素、巴利森昔A、巴利森昔B、巴利森昔C含量的UPLC-MS/MS法。在色谱条件优化过程中,本研究考察了流动相中不同浓度甲酸对待测成分定量分析的影响。结果显示,在水相和有机相中加入0.1%甲酸后,各待测成分峰形对称、分离度良好,故最终确定了“2.2”项的色谱流动相。在定量离子对其质谱条件的优化过程中,本研究选择了4种待测成分的母离子和子离子,并对其碰撞电压和射频电压进行了逐一优化,最终确立了“2.3”项的质谱条件。方法学考察结果显示,所建立的UPLC-MS/MS法操作简便、快速、准确度高。

中药化学成分复杂,口服给药是目前最常见的给药途径之一,且绝大多数药物口服后在小肠部位吸收^[30]。通过对药物的肠道吸收特性进行研究,可以获得其有效吸收部位、吸收影响因素等信息^[31]。外翻肠囊法是一种在体外模拟肠道环境并检测药物吸收情况的常见方法,该法不仅具有操作简单、快速、成本低的特点,同时还能用以比较药物在不同肠段的吸收情况,并获知其转运特征^[32-33]。本研究通过预试验确定不同粒径天麻粉供试液的剂量,以体现天麻素等成分在有效、安全的剂量下的肠吸收情况;此外,本研究将肠循环时间控制在120 min,以确保体外肠囊的正常生理活性。

肠吸收情况检测结果显示,2.5 g/L天麻极细粉中天麻素和巴利森昔B的 Q 、 K_a 值(全肠段),巴利森昔C的 Q

值(结肠)和 K_a 值(回肠、结肠);2.5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(全肠段),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(十二指肠、空肠、回肠),巴利森苷C的 K_a 值(结肠);5 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 值(十二指肠),巴利森苷A和巴利森苷B的 Q 值(全肠段),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠、空肠);5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(十二指肠、空肠、结肠)和 K_a 值(全肠段),巴利森苷B的 Q 值(十二指肠、回肠、结肠),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠、回肠);10 g/L天麻极细粉中巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠),巴利森苷C的 Q 值(空肠、回肠)以及10 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(结肠)和 K_a 值(十二指肠),巴利森苷B的 Q 值(十二指肠、回肠、结肠)和 K_a 值(十二指肠、结肠),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠、回肠)和 K_a 值(十二指肠)均较同剂量天麻细粉显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。2.5 g/L天麻极细粉中巴利森苷A的 K_a 值(空肠),巴利森苷C的 Q 值(十二指肠);2.5 g/L天麻超微粉中巴利森苷A的 K_a 值(空肠、回肠),巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(十二指肠、空肠);5 g/L天麻极细粉中天麻素的 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷A的 K_a 值(结肠),巴利森苷B的 K_a 值(回肠),巴利森苷C的 K_a 值(空肠、回肠);5 g/L天麻超微粉中天麻素和巴利森苷C的 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷A的 Q 值(空肠、结肠)和 K_a 值(结肠),巴利森苷B的 K_a 值(空肠、回肠);10 g/L天麻极细粉中巴利森苷A的 Q 、 K_a 值(回肠);10 g/L天麻超微粉中巴利森苷A的 Q 值(十二指肠)和 K_a 值(空肠),巴利森苷C的 K_a 值(空肠)均较同剂量天麻细粉显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。2.5 g/L天麻细粉中天麻素的 Q 值(结肠),巴利森苷A的 Q 值(结肠)和 K_a 值(回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(空肠、结肠),巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠);2.5 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(结肠),巴利森苷A的 Q 值(回肠、结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷C的 K_a 值(结肠);2.5 g/L天麻超微粉中巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 值(结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠);5 g/L天麻细粉中天麻素、巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(结肠),巴利森苷B的 K_a 值(结肠);5 g/L天麻极细粉中天麻素和巴利森苷A的 Q 、 K_a 值(结肠),巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠);5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(回肠、结肠),巴利森苷A的 Q 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(空肠、结肠),巴利森苷C的 Q 值(空肠、结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠);10 g/L天麻细粉中天麻素的 Q 值(结肠)以及巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠);10 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 值(结肠),巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 、 K_a 值(结肠);10 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(结肠)和 K_a 值(空肠、回肠、结肠),

巴利森苷A和巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠、结肠),巴利森苷B的 Q 值(空肠、回肠、结肠)和 K_a 值(回肠、结肠)均较同组十二指肠显著降低($P<0.05$)。2.5 g/L天麻极细粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(空肠),2.5 g/L天麻超微粉中天麻素的 Q 值(空肠、回肠)和 K_a 值(空肠),5 g/L天麻细粉中天麻素的 Q 、 K_a 值(空肠、回肠)以及2.5 g/L天麻极细粉中巴利森苷B的 Q 值(空肠、回肠)和 K_a 值(空肠),5 g/L天麻细粉中巴利森苷B的 K_a 值(空肠、回肠),10 g/L天麻极细粉中巴利森苷B的 K_a 值(回肠)均较同组十二指肠显著升高($P<0.05$)。5 g/L以及10 g/L天麻细粉、极细粉、超微粉中天麻素、巴利森苷A、巴利森苷B、巴利森苷C的 Q 、 K_a 值(全肠段)均较同肠段同粒径2.5 g/L天麻粉显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

由上述结果可见,天麻素在各肠段的 K_a 值有随剂量增加而升高的趋势,且同粒径不同剂量组别之间的差异较大,提示该化合物在肠道中的吸收可能为被动转运^[20],主要吸收部位为小肠,而结肠吸收最少。巴利森苷类化合物在不同肠段的吸收亦存在差异,其在空肠、回肠中的 K_a 值虽有随剂量的增加而升高的趋势,但5、10 g/L剂量组之间的差异不大,提示该类化合物在空肠、回肠可能为主动转运^[25]。同时,在不同剂量下,小肠对天麻超微粉中天麻素的吸收普遍多于天麻细粉和极细粉,而超微粉中巴利森苷类化合物在空肠段的吸收却有高有低,提示超微粉碎技术虽可促进中药材中某些成分的吸收,但并非针对所有成分,这可能由肠道中酶系和转运蛋白对代谢物的影响存在差异所致^[34]。

综上所述,本研究建立了同时测定肠液样品中4个活性成分含量的UPLC-MS/MS法,该法专属性强、灵敏度及分析效率高、操作简便快速,可用于大量生物样品的定量分析。天麻中的4种有效成分在4个肠段均有吸收,且主要集中于小肠。天麻中的天麻素可能为被动吸收,巴利森苷类可能为主动转运,天麻粉碎粒径可影响上述4种有效成分的肠吸收特性。本研究初步探讨了不同粒径天麻粉中4种活性成分在离体肠道中的吸收特性及差异,但外翻肠囊模型属体外模型,无法真实模拟体内环境以及肠液、胆汁等因素对药物吸收的影响,且随着试验时间的延长,肠段活性也会逐渐降低^[27]。因此在后续研究中,本课题组将会继续开展不同粒径超微粉的肠灌流以及体内药动学研究,以进一步探讨粒径对天麻有效成分体内吸收特性的影响。

参考文献

- [1] WU J, WU B, TANG C, et al. Analytical techniques and pharmacokinetics of gastrodia elata Blume and its constituents[J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1137-1149.
- [2] ZHAN HD, ZHOU HY, SHI YP, et al. The rhizome of *Gastrodia elata* Blume: an ethnopharmacological review[J]. *J*

Ethnopharmacol, 2016, 189(11):361-385.

- [3] LI Z, WANG Y, OUYANG H, et al. A novel dereplication strategy for the identification of two new trace compounds in the extract of *Gastrodia elata* using UHPLC/Q-TOF-MS/MS[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015. DOI:10.1016/j.jchromb.2015.02.020.
- [4] 罗刚, 陈立庭, 周晶. 超微粉碎技术在中药研究中的应用[J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(2):108-112.
- [5] 孙强, 何应. 当归超微粉的药剂学研究[J]. *中国药房*, 2007, 18(15):1141-1143.
- [6] 吴艳萍, 李渠筹, 刘强. 延胡索细粉与超微粉溶出度比较[J]. *中国药房*, 2010, 21(19):1795-1797.
- [7] 张福君, 瞿晶田, 王强. 超微粉碎技术对灵芝中三萜类成分溶出的影响[J]. *中国药房*, 2018, 29(5):599-602.
- [8] 刘智, 王爱民, 许祖超, 等. 全天麻胶囊特征指纹图谱研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(15):86-88.
- [9] 刘智, 王爱民, 许祖超, 等. 一测多评技术在天麻药材质量评价中的应用[J]. *中国药房*, 2012, 23(47):4469-4471.
- [10] 刘帆, 陈亭亭, 陈艳, 等. 不同粒径天麻粉中有效成分的体外溶出度比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(9):124-129.
- [11] 陈亭亭, 刘帆, 陈艳, 等. 不同粒径天麻超微粉对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(8):71-76.
- [12] 刘顺金, 李娟娟. 天麻素在脑损伤治疗中的研究进展[J]. *神经解剖学杂志*, 2016, 32(6):781-784.
- [13] 陈国宁, 陈学武, 苏乙花, 等. 天麻素对脑转移瘤患者头痛头晕症状的效果[J]. *广东医学*, 2017, 38(17):2713-2714, 2717.
- [14] 周晓楠, 宋雪兰, 李艳, 等. 对羟基苯甲醛对脑缺血/再灌注损伤的保护作用研究[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(12):1729-1735.
- [15] 张亭, 李伟超. 天麻素胶囊联合洛美利嗪治疗血管神经性偏头痛的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(2):327-331.
- [16] 李诺利, 庞邦斌, 银胜高, 等. 天麻中成药制剂临床研究概况[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(19):226-229.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:363-368.
- [18] ZHAI L, SHI J, WU X, et al. Ex vivo and in situ evaluation of 'dispelling-wind' Chinese medicine herb: drugs on intestinal absorption of chlorogenic acid[J]. *Phytother Res*, 2015, 29(12):1974-1981.
- [19] HE R, XU Y, PENG J, et al. The effects of 18 β -glycyrrhetic acid and glycyrrhizin on intestinal lesorption of paeoniflorin using the everted rat gut sac model[J]. *J Nat Med*. 2017, 71(1):198-207.
- [20] 谭建玲, 邢翔飞, 陈进兵, 等. 外翻肠囊法研究灯盏花素小肠吸收的影响因素[J]. *中国药房*, 2015, 26(13):1763-1766.
- [21] 赵国巍, 陈绪龙, 梁新丽, 等. 三七皂苷长循环纳米粒的肠吸收及药动学研究[J]. *中国药房*, 2014, 25(43):4052-4055.
- [22] 黄慧辉, 张小燕, 沈娟, 等. 菝葜抗炎有效部位群在大鼠肠外翻试验中的吸收特性考察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(8):96-99.
- [23] 秦海蛟, 柳梦婷, 唐力英, 等. 肠外翻囊法研究淫羊藿肠吸收成分及其吸收特征[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(22):163-168.
- [24] 侯靖宇. 羊耳菊活性部位在肠道的吸收与代谢特征研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2017.
- [25] 巩仔鹏, 李梅, 侯靖宇, 等. 外翻肠囊法研究羊耳菊提取物在大鼠肠内的吸收[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(3):609-617.
- [26] 董莉, 程鹏程, 唐丽, 等. 离体外翻肠囊法研究荜茇花提取物中9个成分的肠吸收特性[J]. *中国医药工业杂志*, 2014, 45(9):858-862.
- [27] 钱珊珊, 桂双英, 杨满琴, 等. 中药超微粉碎技术的研究进展[J]. *陕西中医药大学学报*, 2019, 42(3):136-140.
- [28] 杨红叶. 超微粉碎技术的研究应用现状[J]. *食品安全导刊*, 2019(12):149.
- [29] 李婧琳, 王媚, 史亚军, 等. 超微粉碎技术在中药制剂中的应用分析[J]. *现代中医药*, 2018, 38(5):121-123, 130.
- [30] 何帅, 蔺明煊, 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.
- [31] VOLPE DA. Application of method suitability for drug permeability classification[J]. *AAPS J*, 2010, 12(4):670-678.
- [32] YUE C, WANG W, TIAN WL, et al. Lipopolysaccharide-induced failure of the gut barrier is sitespecific and inhibitable by growth hormone[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(4):407-415.
- [33] 沈芸, 徐蓓蕾, 杨新宇, 等. 三种研究药物肠道吸收机制的方法[J]. *哈尔滨商业大学学报(自然科学版)*, 2016, 32(1):11-13, 17.
- [34] 巩仔鹏, 陈颖, 张瑞杰, 等. 疾病状态下的中药药代动力学研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(2):169-173.

(收稿日期:2019-07-01 修回日期:2019-12-12)

(编辑:张元媛)