

芍药甘草汤自组装纳米粒的促吸收作用研究[△]

魏欣玲^{1,2*}, 张双辰³, 张年战³, 何沂灿^{2,4}, 杜超颖², 申宝德³, 沈成英^{2#}[1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 江西省人民医院(南昌医学院第一附属医院)药学部, 南昌 330006; 3. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004; 4. 成都中医药大学药学院, 成都 611137]

中图分类号 R283.6; R944.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)06-0713-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.06.04



摘要 目的 探讨芍药甘草汤自组装纳米粒(SGD-SAN)形成对其主要活性成分肠吸收行为的影响及机制。方法 制备SGD-SAN并进行表征;采用大鼠在体单向肠灌注模型,以吸收速率常数(K_a)和表观渗透系数(P_{eff})为指标,以游离药物为对照,探讨SGD-SAN中5种活性成分(芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸)在空肠和回肠的吸收特性;在较佳吸收肠段考察药物浓度及外排转运蛋白抑制剂(P糖蛋白抑制剂维拉帕米、多药耐药相关蛋白2抑制剂吲哚美辛、乳腺癌耐药蛋白抑制剂利血平)对上述成分肠吸收特性的影响。**结果** 所得SGD-SAN呈球状且大小均一,平均粒径为(155.57±2.65)nm,多分散性指数为0.34±0.03,Zeta电位为(-9.30±1.12)mV;芍药内酯苷等5种活性成分的平均总含量为12.26%,且不受酶降解和肠道物理吸收的影响。与游离药物组比较,SGD-SAN组中5种成分在回肠段均表现出更高的吸收速率,且在回肠段中的 K_a 和 P_{eff} (回肠段中甘草酸的 P_{eff} 除外)均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其吸收具有浓度依赖性趋势。游离药物组中,各成分的吸收均受相应抑制剂的调控($P<0.05$ 或 $P<0.01$);而在SGD-SAN组中,除芍药内酯苷和芍药苷外,其余成分均不受抑制剂的影响($P>0.05$)。**结论** SGD-SAN能够显著改善芍药内酯苷等活性成分的肠道吸收效率,上述促吸收作用可能与规避外排转运蛋白影响、兼具混合吸收模式有关。

关键词 芍药甘草汤;自组装纳米粒;在体单向肠灌注;吸收速率常数;表观渗透系数;促吸收机制

Study on the absorption-enhancing effect of self-assembled nanoparticles from Shaoyao ganciao decoction

WEI Xinling^{1,2}, ZHANG Shuangchen³, ZHANG Nianzhan³, HE Yican^{2,4}, DU Chaoying², SHEN Baode³, SHEN Chengying²[1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Dept. of Pharmacy, Jiangxi Provincial People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Nanchang Medical College), Nanchang 330006, China; 3. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 4. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China]

ABSTRACT OBJECTIVE To investigate the effect and mechanism of self-assembled nanoparticles from Shaoyao ganciao decoction (SGD-SAN) on the intestinal absorption behavior of its main active components. **METHODS** SGD-SAN was prepared and characterized. Using an *in-situ* single-pass intestinal perfusion model in rats, the absorption characteristics of five active components (albiflorin, paeoniflorin, liquiritin apioside, liquiritin, glycyrrhizic acid) from SGD-SAN in the jejunum and ileum were studied, with the absorption rate constant (K_a) and apparent permeability coefficient (P_{eff}) as indicators, and compared with free drugs. In the intestinal segment with optimal absorption, the effects of drug concentration and efflux transporter inhibitors (P-glycoprotein inhibitor verapamil, multidrug resistance-associated protein 2 inhibitor indomethacin, breast cancer resistance protein inhibitor reserpine) on the intestinal absorption characteristics of these components were examined. **RESULTS** The obtained SGD-

SAN exhibited a spherical shape with uniform sizes, an average particle diameter of (155.57±2.65) nm, a polydispersity index of 0.34±0.03, and a Zeta potential of (-9.30±1.12) mV. The average total content of five active components, including albiflorin, was 12.26%, and remained unaffected by enzymatic degradation and intestinal physical absorption. Compared with the free drug group, the five active components in the SGD-SAN

△基金项目 国家自然科学基金项目(No.82260848);江西省自然科学基金项目(No.20232BAB216139);江西中医药大学大学生创新创业训练计划项目(No.202510412257);江西省赣鄱俊才支持计划·高层次高技能领军人才培养项目(No.赣人社字[2024]69号)

*第一作者 硕士研究生。研究方向:中药新型给药系统。E-mail: 2386709073@qq.com

#通信作者 副主任中药师,副教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药纳米给药系统。E-mail:984075899@qq.com

group exhibited higher absorption rates in the ileal segment, with significantly elevated K_a and P_{eff} values (except for the P_{eff} value of glycyrrhizic acid in the ileal segment) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Their absorption demonstrated a concentration-dependent trend. In the free drug groups, the absorption of each component was regulated by corresponding inhibitors ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); whereas in the SGD-SAN groups, except for albiflorin and paeoniflorin, the absorption of the remaining components was not affected by the inhibitors ($P > 0.05$). **CONCLUSIONS** SGD-SAN significantly enhances the intestinal absorption efficiency of active components. The above absorption-enhancing effect may be related to the avoidance of efflux transporter influence and the presence of a mixed absorption mode.

KEYWORDS Shaoyao gancào decoction; self-assembled nanoparticles; *in-situ* single-pass intestinal perfusion; K_a ; P_{eff} ; absorption-enhancing mechanism

经典名方芍药甘草汤(Shaoyao gancào decoction, SGD)源自汉代张仲景的《伤寒论》,由芍药与甘草按质量比1:1配伍而成,具有益阴养血、缓急止痛的功效,被广泛用于治疗经筋挛急、脘腹疼痛等症,疗效确切^[1-2]。值得注意的是,芍药苷、甘草酸等SGD主要活性成分具有极性较大或溶解度较低的特点,其中芍药苷作为P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的底物,体内吸收极差,口服生物利用度只有3%~4%^[3]。然而,当SGD通过口服方式给药时,其所含芍药苷等成分的生物利用度却显著提升^[4],但相关作用机制尚不明确。

现代研究表明,甘草活性成分甘草酸、甘草次酸(glycyrrhetic acid, GA)、18 β -甘草次酸(18 β -glycyrrhetic acid, 18 β -GA)可通过影响外排转运体(P-gp)功能及表达、调节细胞膜渗透性等方式发挥促吸收作用^[5-6]。但是,这些活性成分对P-gp的影响可能是双向的:GA和18 β -GA既可能抑制P-gp的活性,也可能增强P-gp的活性^[7-8];甘草酸可通过增强P-gp的活性而抑制芍药苷的吸收^[7];甘草酸对芍药苷吸收的影响呈浓度依赖性——1 mmol/L的甘草酸可促进芍药苷的吸收,而100 μ mol/L的甘草酸则可抑制芍药苷的吸收^[9]。可见,SGD口服促进芍药苷吸收的机制仍待阐明。

在中药汤剂煎煮过程中,药材中的活性成分(如生物碱、黄酮、皂苷等)会通过非共价键相互作用,自发聚集成粒径为10~1 000 nm的纳米粒子,这一过程被称为“自组装”。近年来,汤剂煎煮形成的自组装纳米粒(self-assembled nanoparticles, SAN)备受学者关注,其不仅可阐释中药复方配伍的科学内涵,而且可作为药物载体以提高天然成分的生物利用度^[10-11]。本课题组前期研究表明,SGD中芍药苷肠吸收的增加可能与SAN的形成有关^[12-13],但具体促吸收机制尚不清楚。基于此,本研究拟采用在体单向肠灌注模型,结合外排转运蛋白抑制剂进行干预,系统考察芍药甘草汤自组装纳米粒(SGD-SAN)主要活性成分(芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸)在不同肠段的吸收特征,以期阐明SGD-SAN的促吸收作用机制,为深入理解中药复

方配伍煎煮的现代科学内涵提供新的实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-2010A型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司),Mastersizer 2000型激光粒度仪、Zetasizer Pro型纳米粒度电位仪(英国Malvern公司),Tecnai G2 F30型透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)(荷兰FEI公司),360ES 225SM-DR(E)型电子天平(瑞士Precisa公司),BY-R20型高速离心机(北京白洋医疗器械有限公司),Smart-N型超纯水机(上海康雷分析仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

白芍饮片(批号23052506,产地安徽)、炙甘草饮片(批号22051001,产地内蒙古)均购自江西彭氏国药堂饮片有限公司,经江西省人民医院药学部应萍副主任中药师鉴定,分别为毛茛科植物芍药*Paeonia lactiflora* Pall.的干燥根、豆科植物甘草*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎。

苯甲酰芍药苷对照品(批号PS0469,纯度 \geq 98%)、甘草素对照品(批号PS1073,纯度 \geq 98%)、异甘草素对照品(批号PS0234,纯度 \geq 98%)均购自成都普思生物科技股份有限公司;芍药内酯苷对照品(批号PS011455,纯度 \geq 98%)、芍药苷对照品(批号HR249W4,纯度 \geq 98%)、芹糖甘草苷对照品(批号HR1718W9,纯度 \geq 98%)、甘草苷对照品(批号HR2281W1,纯度 \geq 98%)、异甘草苷对照品(批号HR5423S1,纯度 \geq 98%)、甘草酸对照品(批号HG236W4,纯度 \geq 98%)均购自宝鸡辰光生物科技有限公司;维拉帕米对照品(批号D23231220,纯度 \geq 98%)、吲哚美辛对照品(批号L2301081,纯度 \geq 98%)、利血平对照品(批号A2510167,纯度 \geq 98%)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;纤维素透析袋(截留相对分子量3 500 Da)购自上海源叶生物科技有限公司;磷酸、氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)、氯化镁($MgCl_2$)、氯化钙($CaCl_2$)、碳酸氢钠($NaHCO_3$)、磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)、葡萄糖等均为分析纯,甲醇、乙腈均为色谱纯,水为自制超纯水。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠(85只),体重180~200 g,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,实验动物生产许可证号为SCXK(豫)2020-0005。所有大鼠均饲养于恒温恒湿的动物房[温度(25±2)°C,相对湿度60%,每12 h昼夜节律]内,自由摄食、饮水。实验操作严格遵循实验动物福利伦理审查要求,实验方案经南昌医学院实验动物伦理委员会审批通过(批准号NYLLSC20240408)。

2 方法与结果

2.1 SGD-SAN的制备

称取白芍、炙甘草饮片各30 g,混匀,加入10倍量水,浸泡30 min,煎煮1 h,趁热滤过;药渣加8倍量水,煎煮1 h,趁热滤过;合并2次滤液,浓缩,制备成含生药1 g/mL的SGD提取液。取上述SGD提取液,以4 000 r/min离心30 min,取上清液加至透析袋中,随即将透析袋装入含水400 mL的烧杯中,于25 °C下以200 r/min透析30 min;取出透析袋中的样品,以13 000 r/min离心30 min,取上清液。重复上述“透析-离心-取上清液”的操作。合并2次上清液,即得SGD-SAN。将所得SGD-SAN冷冻干燥24 h,即得SGD-SAN冻干粉[重复制备3批,得率为(12.94±0.97)%]。

2.2 SGD-SAN的表征

2.2.1 粒径与Zeta电位测定

取“2.1”项下SGD-SAN冻干粉适量,用水稀释至适宜浓度,超声5 min分散后,测定其粒径和Zeta电位。样品平行测定3次,取平均值。结果显示,SGD-SAN的平均粒径为(155.57±2.65) nm,多分散性指数为0.34±0.03,Zeta电位为(-9.30±1.12) mV。

2.2.2 微观形态观察

取“2.1”项下SGD-SAN冻干粉适量,用适量水分散后,滴于有碳膜的铜网上,经自然干燥后,于TEM下观察其微观形态。结果(图1)显示,SGD-SAN呈球状且大小均匀,粒径为50~200 nm,与“2.2.1”项下粒径检测结果一致。

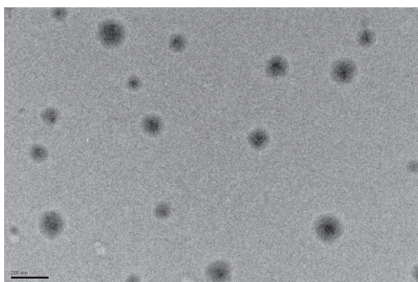


图1 SGD-SAN的TEM图(标尺:200 nm)

2.2.3 9种成分的含量测定

采用高效液相色谱法测定SGD-SAN中9种成分的含量。以Shim-pack GIS C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)为色谱柱,以乙腈(B)-0.1%磷酸溶液(D)为流动相进行梯

度洗脱(0~10 min,10%B→20%B;10~18 min,20%B→21%B;18~19 min,21%B→23%B;19~35 min,23%B→40%B;35~40 min,40%B→50%B;40~50 min,50%B;50~53 min,50%B→10%B;53~60 min,10%B);检测波长为237 nm;流速为1.0 mL/min;柱温为40 °C;进样量为10 μL。方法学考察结果显示,该法专属性、精密度、重复性、稳定性等均符合2025年版《中国药典》(四部)的相关要求。3批SGD-SAN冻干粉中,芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、异甘草苷、甘草素、苯甲酰芍药苷、甘草酸、异甘草素的平均含量分别为1.25%、4.54%、0.97%、1.18%、0.18%、0.13%、0.10%、4.32%、0.01%。根据上述结果,本研究选择含量较高的5种活性成分(芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸)进行后续促吸收机制分析。

2.3 肠吸收液中5种活性成分的含量测定

2.3.1 色谱条件

色谱条件同“2.2.3”项。

2.3.2 溶液的配制

(1)K-R缓冲液:称取CaCl₂ 0.37 g,加少量水超声溶解;称取NaCl 7.8 g、KCl 0.35 g、NaHCO₃ 1.37 g、NaH₂PO₄ 0.32 g、MgCl₂ 0.02 g、葡萄糖1.4 g,加少量水超声溶解,与上述CaCl₂溶液混匀,并用水定容至1 L,充分摇匀,即得K-R缓冲液(现配现用)。

(2)空白肠灌流液:将K-R缓冲液预热至37 °C后,按下文方法进行在体肠灌流,收集流出液,即得空白肠灌流液。

(3)混合对照品溶液:精密称取芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸对照品适量,置于10 mL容量瓶中,用甲醇超声溶解并定容,制成相应质量浓度的单一对照品母液;分别取上述单一对照品母液适量于同一25 mL容量瓶中,用甲醇稀释并定容,制成质量浓度分别为16.38、32.32、8.19、8.08、32.26 μg/mL的混合对照品溶液,备用。

(4)不同浓度SGD-SAN肠灌流液、游离药物肠灌流液:精密称取“2.1”项下SGD-SAN冻干粉适量,用K-R缓冲液稀释并定容,分别制成含SGD-SAN 0.1、0.2、0.4 mg/mL的SGD-SAN肠灌流液。分别精密称取芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸对照品,按照SGD-SAN的质量比(1.25:4.54:0.97:1.18:4.32)混合,用K-R缓冲液稀释并定容,制成5种成分总质量浓度分别为12.25、24.5、49 μg/mL的游离药物肠灌流液。

(5)含外排转运蛋白抑制剂的SGD-SAN肠灌流液:分别精密称取维拉帕米(P-gp抑制剂)、吡喹酮[多药耐药相关蛋白2(multidrug resistance-associated protein 2,MRP2)抑制剂]、利血平[乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein,BCRP)抑制剂]对照品适量,按“2.3.2(4)”项下SGD-SAN肠灌流液、游离药物肠灌流液

的配制方法,分别制成含维拉帕米 100 $\mu\text{mol/L}$ 、吡啶美辛 100 $\mu\text{mol/L}$ 、利血平 50 $\mu\text{mol/L}$ 的单一 SGD-SAN、游离药物肠灌液^[14]。

(6)供试品溶液的配制:收集大鼠在体肠灌流流出液后,精密吸取 200 μL ,加甲醇 200 μL 稀释,涡旋 3 min、离心 10 min 后,取上清液,即得供试品溶液。

2.3.3 方法学考察

根据 2020 年版《中国药典》(四部)进行方法学考察,结果显示,空白肠灌液无干扰,方法专属性良好;各成分在其线性范围内与峰面积的线性关系良好($r \geq 0.999$);精密度试验($\text{RSD} < 2\%$)、稳定性试验(24 h 内 $\text{RSD} < 2\%$)及加样回收率试验(97.38%~103.04%)均符合相关要求。

2.4 促吸收机制分析

2.4.1 酶降解和物理吸附作用的影响考察

按“2.3.2(4)”项下方法平行配制 SGD-SAN 肠灌液(0.4 mg/mL)6 份,加至空白肠灌液中,密封后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育。分别于孵育的 0、15、120 min(根据肠吸收过程的阶段特征及药物浓度变化规律设定取样时间,下同)取样,按“2.3.2(6)”项下方法处理后,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录各成分的色谱峰峰面积。分别以 15、120 min 时峰面积与 0 min 时峰面积的比值作为剩余百分数,以反映酶降解对成分含量的影响。结果(表 1)显示,在实验时间内、在大鼠肠道酶作用下,各成分质量浓度的变化均小于 2%,表明酶降解作用对芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸的含量测定影响不大。

表 1 酶降解和物理吸附对 SGD-SAN 中 5 种成分含量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

条件	待测成分	0 min	15 min	120 min
酶降解	芍药内酯苷	100	98.84 \pm 1.37	98.70 \pm 1.42
	芍药苷	100	99.77 \pm 1.93	98.60 \pm 0.30
	芹糖甘草苷	100	100.41 \pm 1.25	100.61 \pm 1.23
	甘草苷	100	101.00 \pm 1.66	101.24 \pm 1.58
	甘草酸	100	100.98 \pm 1.47	101.40 \pm 1.60
物理吸附	芍药内酯苷	100	98.37 \pm 0.89	98.86 \pm 0.54
	芍药苷	100	99.81 \pm 0.51	98.87 \pm 1.26
	芹糖甘草苷	100	99.62 \pm 1.03	98.87 \pm 0.59
	甘草苷	100	98.66 \pm 1.83	98.78 \pm 1.13
	甘草酸	100	98.26 \pm 1.16	98.29 \pm 1.09

取大鼠 1 只,禁食、不禁水 12 h 后麻醉,以仰卧位固定,沿腹中线剪开小口,剪取小肠段(共 6 段)并剖开洗净,置于 0.4 mg/mL 的 SGD-SAN 肠灌液中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育。分别于孵育的 0、15、120 min 取样,按“2.3.2(6)”项下方法处理后,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录各成分的色谱峰峰面积。分别以 15、120 min 时峰面积与 0 min 时峰面积的比值作为剩余百分数,以反映物理吸附对各成分含量的影响。结果(表 1)显示,在实验时间内,各成分的质量浓度变化均小于 2%,表明肠

道对芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸的物理吸附作用可忽略不计。

2.4.2 大鼠在体单向肠灌流实验

采用在体单向肠灌流实验研究不同吸收部位、不同药物浓度及不同转运蛋白抑制剂对 SGD-SAN 肠吸收的影响。具体操作如下^[14-15]:取大鼠 84 只,禁食、不禁水 12 h,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,待其疼痛反射消失后,沿腹中线剪一长约 4 cm 的切口,分离各所需肠段约 10 cm;将肠段两端开口并插入硅胶管,用灭菌手术线结扎固定;各肠段用 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水洗净后,再用 37 $^{\circ}\text{C}$ K-R 缓冲液以 0.2 mL/min 的速度灌流平衡 15 min;排空液体并用 37 $^{\circ}\text{C}$ 肠灌液(含有或不含有抑制剂)以 0.2 mL/min 的速度灌流平衡 30 min 后,开始计时,于出口处放置已知质量的小瓶,每 15 min 收集流出液 1 次,同时记录肠灌液小瓶和流出液小瓶的质量,共收集 6 份。灌流结束后,将大鼠脱颈椎处死,切除灌流肠道并测量其长度及内径(实验过程中,用浸有生理盐水的纱布覆盖大鼠腹部,保持其肠道湿润,同时采用红外灯照射保温)。采用重量法对灌流液流入和流出体积进行校正,从而消除灌流过程中小肠吸收水分等因素所致灌流液体积变化对结果的影响。按下式分别计算 5 种成分的吸收速率常数

$$K_a) \text{ 和 表观渗透系数 } (P_{\text{eff}}): K_a = \left(1 - \frac{C_{\text{out}} V_{\text{out}}}{C_{\text{in}} V_{\text{in}}}\right) \frac{Q}{\pi r^2 L},$$

$$P_{\text{eff}} = \frac{-Q \ln \left(\frac{C_{\text{out}} V_{\text{out}}}{C_{\text{in}} V_{\text{in}}}\right)}{2\pi r L} \text{ [式中, } C_{\text{in}} \text{ 和 } C_{\text{out}} \text{ 分别为肠灌流液和流出液中待测成分的浓度 } (\mu\text{g/mL}), \text{按“2.3”项下方法检测; } V_{\text{in}} \text{ 和 } V_{\text{out}} \text{ 分别为肠灌流液和流出液的体积 } (\text{mL}); Q \text{ 为肠灌流液的灌流速度 } (0.2 \text{ mL/min}); r \text{ 和 } L \text{ 分别是目标肠段的内径 } (\text{cm}) \text{ 和长度 } (\text{cm}) \text{]。采用 SPSS 27.0 软件对数据进行统计分析,采用单因素方差分析进行整体比较并使用 LSD-}t \text{ 检验进行事后两两比较,检验水准 } \alpha = 0.05 \text{。}$$

(1)不同肠段的影响:将大鼠分为游离药物组和 SGD-SAN 组,每组每肠段 6 只。以空肠和回肠作为灌流部位,按前述方法操作,比较 49 $\mu\text{g/mL}$ 游离药物肠灌液、0.4 mg/mL SGD-SAN 肠灌液(SGD-SAN 与游离药物为等效浓度,参考前期预实验和“2.2.3”项下含量测定结果设置,下同)中各成分 K_a 、 P_{eff} 的差异。结果(表 2)显示,游离药物组中,芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草酸在空肠段的 K_a 、 P_{eff} 虽高于回肠段,但差异均无统计学意义($P > 0.05$);SGD-SAN 组中,上述 5 种成分在回肠段的 K_a 、 P_{eff} 虽高于空肠段,但差异亦无统计学意义($P > 0.05$)。与同肠段游离药物组比较,SGD-SAN 组中 5 种成分在空肠和回肠段中均表现出更高的吸收速率,其在回肠段中的 K_a 和 P_{eff} (回肠段中甘草酸的 P_{eff} 除外)均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明 SGD-SAN 促成分吸收的作用主要发生在回肠段。

(2)不同药物浓度的影响:将大鼠分为游离药物低、

表2 不同肠段对游离药物、SGD-SAN中5种成分吸收参数的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	成分	空肠		回肠	
		$K_a/(\times 10^{-4} s)$	$P_{eff}/(\times 10^{-5} cm/s)$	$K_a/(\times 10^{-4} s)$	$P_{eff}/(\times 10^{-5} cm/s)$
游离药物组	芍药内酯苷	4.46 ± 0.90	3.94 ± 0.71	3.84 ± 0.62	3.44 ± 0.43
	芍药苷	4.24 ± 0.66	3.71 ± 0.41	3.22 ± 0.65	2.91 ± 0.81
	蔗糖甘草苷	4.02 ± 0.68	3.52 ± 0.57	3.47 ± 0.82	3.08 ± 0.60
	甘草苷	4.31 ± 0.94	3.76 ± 0.59	4.10 ± 0.46	3.68 ± 0.17
	甘草酸	4.91 ± 0.97	4.52 ± 1.04	4.26 ± 0.72	3.92 ± 0.47
SGD-SAN组	芍药内酯苷	5.55 ± 1.68	6.26 ± 2.86	6.98 ± 1.24 ^a	7.28 ± 0.41 ^b
	芍药苷	4.65 ± 2.52	4.56 ± 1.80	6.35 ± 1.13 ^a	6.68 ± 1.52 ^a
	蔗糖甘草苷	4.88 ± 1.50	5.22 ± 1.80	6.36 ± 0.79 ^a	6.76 ± 1.63 ^a
	甘草苷	5.31 ± 1.94	5.45 ± 1.31	6.84 ± 0.09 ^a	7.34 ± 1.60 ^a
	甘草酸	5.31 ± 1.70	5.54 ± 1.29	6.29 ± 0.50 ^a	6.77 ± 1.84

a: 与同肠段游离药物组比较, $P < 0.05$; b: 与同肠段游离药物组比较, $P < 0.01$ 。

中、高剂量组和SGD-SAN低、中、高剂量组, 每组6只。以回肠作为灌流部位, 按前述方法操作, 比较12.25、24.5、49 $\mu\text{g/mL}$ 游离药物肠灌流液和0.1、0.2、0.4 mg/mL SGD-SAN肠灌流液中各成分 K_a 、 P_{eff} 的差异。结果(表3)显示, 游离药物组中, 5种成分的 K_a 、 P_{eff} 均呈浓度依赖性升高趋势, 其中中剂量组甘草苷的 K_a 、 P_{eff} , 高剂量组甘草苷、甘草酸的 K_a 、 P_{eff} , 以及高剂量组芍药内酯苷的 P_{eff} 均显著高于低剂量组, 高剂量组甘草酸的 K_a 、 P_{eff} 均显著高于中剂量组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。SGD-SAN组中, 各成分的 K_a 、 P_{eff} 也有类似变化, 其中中剂量组甘草苷的 K_a 和芍药内酯苷、蔗糖甘草苷的 P_{eff} , 高剂量组芍药内酯苷、蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草酸的 K_a 和5种成分的 P_{eff} 均显著高于低剂量组, 高剂量组蔗糖甘草苷的 K_a 、 P_{eff} 和甘草苷的 K_a 均显著高于中剂量组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与游离药物组比较, SGD-SAN组中5种活性成分在回肠段的吸收参数(K_a 和 P_{eff})普遍更高, 其中在中、高剂量下, 两组各成分 K_a 、 P_{eff} 的差异普遍具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

(3)不同转运蛋白抑制剂的影响: 将大鼠分为游离药物加或不加抑制剂组和SGD-SAN加或不加抑制剂组, 每组6只。以回肠作为灌流部位, 按前述方法操作, 加或不加转运蛋白抑制剂的49 $\mu\text{g/mL}$ 游离药物肠灌流液、比较加或不加转运蛋白抑制剂的0.4 mg/mL SGD-SAN肠灌流液中各成分 K_a 、 P_{eff} 的差异。结果(表4)显示, 与不加抑制剂组相比, 不同转运蛋白抑制剂对各成分的肠吸收参数具有明显的调控作用——游离药物组中, 与不加抑制剂组比较, 维拉帕米可使芍药苷的 K_a 、 P_{eff} 和蔗糖甘草苷、甘草苷的 P_{eff} 显著升高, 吡啶美辛可使芍药内酯苷、蔗糖甘草苷、甘草酸的 K_a 、 P_{eff} 显著升高, 利血平可使芍药内酯苷、甘草酸的 K_a 、 P_{eff} 显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。这些结果提示, 芍药内酯苷和甘草酸可能是MRP2、BCRP蛋白的底物, 芍药苷和甘草苷可能依赖P-gp外排, 而蔗糖甘草苷则可能同时是P-gp、MRP2蛋白的底物。SGD-SAN组中, 与不加抑制剂组比较, 吡啶美

表3 不同药物浓度对游离药物、SGD-SAN中5种成分肠吸收参数的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	成分	$K_a/(\times 10^{-4} s)$	$P_{eff}/(\times 10^{-5} cm/s)$
游离药物低剂量组	芍药内酯苷	3.08 ± 0.24	2.52 ± 0.24
	芍药苷	2.26 ± 0.33	1.84 ± 0.31
	蔗糖甘草苷	2.78 ± 0.74	2.25 ± 0.54
	甘草苷	2.34 ± 0.37	1.89 ± 0.19
	甘草酸	2.83 ± 0.43	2.32 ± 0.46
游离药物中剂量组	芍药内酯苷	3.33 ± 0.51	2.95 ± 0.57
	芍药苷	2.84 ± 0.64	2.47 ± 0.56
	蔗糖甘草苷	3.29 ± 0.36	2.87 ± 0.11
	甘草苷	3.53 ± 0.62 ^a	3.11 ± 0.60 ^a
	甘草酸	2.98 ± 0.30	2.64 ± 0.06
游离药物高剂量组	芍药内酯苷	3.84 ± 0.62	3.44 ± 0.43 ^a
	芍药苷	3.22 ± 0.65	2.91 ± 0.81
	蔗糖甘草苷	3.47 ± 0.82	3.08 ± 0.60
	甘草苷	4.10 ± 0.46 ^b	3.68 ± 0.17 ^{ab}
	甘草酸	4.26 ± 0.72 ^{bc}	3.92 ± 0.48 ^{bc}
SGD-SAN低剂量组	芍药内酯苷	4.59 ± 1.00	3.92 ± 0.70 ^d
	芍药苷	4.89 ± 0.31 ^e	4.23 ± 0.56 ^d
	蔗糖甘草苷	3.74 ± 0.26	3.19 ± 0.42
	甘草苷	4.04 ± 0.35 ^d	3.55 ± 0.91 ^d
	甘草酸	4.04 ± 1.04	3.50 ± 0.74
SGD-SAN中剂量组	芍药内酯苷	4.93 ± 0.81 ^f	4.55 ± 0.86 ^e
	芍药苷	5.86 ± 1.09 ^f	5.43 ± 1.02 ^f
	蔗糖甘草苷	4.42 ± 0.78	4.06 ± 0.85 ^e
	甘草苷	5.51 ± 0.84 ^{ef}	5.14 ± 0.90 ^f
	甘草酸	5.51 ± 0.89 ^f	5.17 ± 1.00 ^f
SGD-SAN高剂量组	芍药内酯苷	6.98 ± 1.24 ^{gh}	7.28 ± 0.41 ^{bh}
	芍药苷	6.35 ± 1.13 ^g	6.68 ± 1.52 ^{gh}
	蔗糖甘草苷	6.36 ± 0.79 ^{gh}	6.76 ± 1.63 ^{gh}
	甘草苷	6.84 ± 0.09 ^{gh}	7.34 ± 1.60 ^{gh}
	甘草酸	6.29 ± 0.50 ^{gh}	6.77 ± 1.84 ^a

a: 与同组低剂量比较, $P < 0.05$; b: 与同组低剂量比较, $P < 0.01$; c: 与同组中剂量比较, $P < 0.05$; d: 与游离药物低剂量组比较, $P < 0.05$; e: 与游离药物低剂量组比较, $P < 0.01$; f: 与游离药物中剂量组比较, $P < 0.05$; g: 与游离药物高剂量组比较, $P < 0.05$; h: 与游离药物中剂量组比较, $P < 0.01$; 此表中, 游离药物、SGD-SAN高剂量组分别等同表2中游离药物组(回肠段)、SGD-SAN组(回肠段)。

辛、利血平均可使芍药内酯苷的 K_a 显著升高($P < 0.05$); 维拉帕米可使芍药苷的 P_{eff} 显著升高($P < 0.05$); 而维拉帕米、吡啶美辛、利血平对蔗糖甘草苷、甘草苷及甘草酸的 K_a 、 P_{eff} 均无明显影响($P > 0.05$)。这些结果提示, 芍药内酯苷可能是MRP2、BCRP蛋白的底物, 芍药苷可能依赖P-gp外排。

3 讨论

大鼠在体单向肠灌流模型是美国FDA推荐的研究药物肠道吸收和代谢的经典模型之一^[15]。该模型直接利用活体动物的肠道, 可保留完整的血液供应、神经调控及肠黏膜生理结构, 从而真实地模拟药物在人体肠道中的复杂跨膜转运机制(如被动扩散、主动转运、外排蛋白作用等)^[16]。本研究采用该模型, 拟系统探究SGD-SAN的促肠吸收特性。本研究选取芍药内酯苷、芍药苷、蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草酸作为核心指标成分, 首先是因为这些成分分别为白芍、甘草的特征活性成分,

表4 不同转运蛋白抑制剂对游离药物、SGD-SAN中5种成分肠吸收参数的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	成分	$K_a/(\times 10^{-4} s)$	$P_{eff}/(\times 10^{-5} cm/s)$
游离药物不加抑制剂组	芍药内酯苷	3.84 ± 0.62	3.44 ± 0.42
	芍药苷	3.22 ± 0.65	2.91 ± 0.81
	芹糖甘草苷	3.47 ± 0.82	3.08 ± 0.60
	甘草苷	4.10 ± 0.46	3.68 ± 0.17
	甘草酸	4.26 ± 0.72	3.92 ± 0.47
游离药物+维拉帕米组	芍药内酯苷	3.82 ± 0.61	3.73 ± 1.11
	芍药苷	6.41 ± 1.13 ^a	6.32 ± 1.39 ^a
	芹糖甘草苷	5.47 ± 1.14	5.20 ± 0.44 ^a
	甘草苷	6.67 ± 1.83	6.54 ± 1.72 ^a
	甘草酸	4.08 ± 0.51	3.96 ± 0.22
游离药物+吡哆美辛组	芍药内酯苷	6.90 ± 1.21 ^a	6.17 ± 1.17 ^a
	芍药苷	3.50 ± 0.72	2.99 ± 0.67
	芹糖甘草苷	6.02 ± 0.06 ^a	5.28 ± 0.05 ^a
	甘草苷	4.53 ± 0.08	3.90 ± 0.11
	甘草酸	7.36 ± 1.36 ^a	6.67 ± 1.37 ^a
游离药物+利血平组	芍药内酯苷	6.38 ± 1.44 ^a	6.04 ± 0.97 ^a
	芍药苷	3.16 ± 0.71	2.88 ± 0.60
	芹糖甘草苷	3.54 ± 0.80	3.25 ± 0.62
	甘草苷	4.34 ± 1.04	3.98 ± 0.62
	甘草酸	8.09 ± 0.24 ^a	8.01 ± 0.97 ^a
SGD-SAN不加抑制剂组	芍药内酯苷	6.98 ± 1.24	7.28 ± 0.41
	芍药苷	6.35 ± 1.13	6.68 ± 1.52
	芹糖甘草苷	6.36 ± 0.79	6.76 ± 1.63
	甘草苷	6.84 ± 0.09	7.34 ± 1.60
	甘草酸	6.29 ± 0.50	6.77 ± 1.84
SGD-SAN+维拉帕米组	芍药内酯苷	6.35 ± 0.47	6.77 ± 1.92
	芍药苷	8.62 ± 2.17	9.17 ± 1.30 ^a
	芹糖甘草苷	7.63 ± 0.75	8.36 ± 2.16
	甘草苷	8.08 ± 1.49	8.80 ± 2.43
	甘草酸	6.16 ± 1.30	6.53 ± 1.46
SGD-SAN+吡哆美辛组	芍药内酯苷	10.02 ± 0.18 ^a	9.30 ± 0.85
	芍药苷	6.45 ± 1.69	5.67 ± 1.12
	芹糖甘草苷	8.42 ± 1.62	7.72 ± 0.90
	甘草苷	7.15 ± 1.77	6.42 ± 1.13
	甘草酸	7.99 ± 1.21	7.31 ± 0.73
SGD-SAN+利血平组	芍药内酯苷	10.67 ± 2.23 ^a	8.85 ± 0.97
	芍药苷	7.10 ± 1.36	5.72 ± 1.20
	芹糖甘草苷	7.49 ± 1.57	5.96 ± 0.95
	甘草苷	8.82 ± 2.13	7.09 ± 1.03
	甘草酸	8.05 ± 1.71	6.49 ± 1.00

a: 与同组无抑制剂组比较: $P < 0.05$; b: 与同组无抑制剂组比较: $P < 0.01$; 此表中, 游离药物、SGD-SAN不加抑制剂组等同表2中游离药物组(回肠段)、SGD-SAN组(回肠段)。

其镇痛、抗炎等药理作用与方剂临床疗效直接相关,是SGD发挥益阴养血、缓急止痛功效的关键物质基础^[17];其次是因为这些成分普遍口服吸收欠佳(如芍药苷溶解性差且为P-gp底物,甘草酸膜渗透性低、吸收效率不足),直接制约了SGD临床疗效的充分发挥^[3];最后是因为表征结果显示,这5种成分在SGD-SAN中的平均总含量为12.26%,定量方法稳定、可行,能全面反映SAN结构对不同类型(单萜苷、黄酮苷、三萜酸)活性成分的肠吸收调控作用,为阐明SGD-SAN的促吸收机制奠定了基础。

首先,本研究评估了SGD-SAN在肠道环境中的稳

定性,结果显示,无论在大鼠肠道酶液中还是在离体肠组织中共孵育,5种活性成分既未发生明显的酶解代谢,也未因非特异性吸附于肠壁而有所损失,表明上述成分基本不受非特异性酶解或管壁物理吸附作用的干扰,后续于在体肠灌注实验中所检测到的成分质量浓度变化可归因于肠道上皮细胞的主动转运与吸收,从而保证了肠吸收参数(K_a 和 P_{eff})检测的准确性。

随后,本研究比较了SGD-SAN与游离药物在空肠和回肠段的吸收特性。游离药物组中,5种成分在空肠段的 K_a 、 P_{eff} 均较回肠段呈轻微升高趋势,与本课题组前期关于芍药苷单体肠吸收规律的研究结果基本一致^[18],提示SGD游离成分在空肠中可能具有更好的吸收特性。当形成SGD-SAN后,上述成分的肠吸收特性发生了明显改变:其在回肠段的吸收参数均普遍高于空肠段,表明SAN的形成可能改变了药物在肠道中的主要吸收部位。与此同时,与游离药物组比较,SGD-SAN组中5种成分在回肠和空肠段中均表现出更高的吸收速率,其在回肠中的 K_a 和 P_{eff} (回肠段中甘草酸的 P_{eff} 除外)均显著升高,表明SGD-SAN对药物吸收的促进作用主要体现在回肠段。笔者推测,这种肠段特异性促吸收作用可能与回肠独特的生理结构有关:回肠段富含派伊尔结,其表面覆盖的微皱褶细胞具有高效摄取纳米颗粒的能力,从而显著提高了药物在回肠段的吸收效率^[19]。

本研究继续考察了不同浓度SGD-SAN和游离药物在回肠段的吸收情况。结果显示,5种成分的吸收参数(K_a 和 P_{eff})均呈随药物浓度增加而升高的趋势,提示其吸收机制可能不仅涉及被动扩散,还包括载体介导的转运或饱和效应。本研究结果还显示,与同剂量游离药物组比较,SGD-SAN组中5种活性成分在回肠段的吸收参数(K_a 和 P_{eff})均表现出更高的数值,其中在中、高剂量下,两组各成分 K_a 、 P_{eff} 的差异普遍具有统计学意义。这验证了SGD-SAN在提高成分吸收方面的优势,且这种优势在较高的药物暴露水平下更明显,为SGD在临床中以更高剂量给药提供了参考依据。

药物的跨膜转运机制复杂,外排转运蛋白是影响诸多中药活性成分口服生物利用度的关键因素^[20]。本研究通过联合转运蛋白抑制剂进行干预,进一步探讨了SGD-SAN的促吸收机制。本研究结果显示,游离药物组中,维拉帕米(P-gp抑制剂)、吡哆美辛(MRP2抑制剂)和利血平(BCRP抑制剂)分别显著提高了相应成分的吸收效率,证实了芍药内酯苷和甘草酸可能是MRP2、BCRP蛋白的底物,芍药苷和甘草苷可能依赖P-gp外排,而芹糖甘草苷则可能同时是P-gp、MRP2蛋白的底物,这一结果与已有文献报道基本一致^[21-24]。而当SGD-SAN形成后,除芍药内酯苷的 K_a 和芍药苷的 P_{eff} 仍受相应抑制剂影响外,其余成分对3种抑制剂均不敏感,提示SGD-SAN的纳米结构能有效屏蔽或绕开P-gp、MRP2、BCRP外排转运蛋白的识别及泵出作用。这可能是SGD-SAN克服中药成分口服吸收屏障、显著提升生物

利用度的关键机制之一。值得注意的是,芍药内酯苷、芍药苷在纳米封装下仍受外排转运蛋白的影响,这可能与两者水溶性较强、从纳米粒中释放较快、部分成分以游离形式暴露于肠道环境下有关。同时,上述结果也提示,SGD-SAN可能表现为纳米粒整体递送与成分释放后吸收并存的混合吸收模式。

然而,本研究存在一定的局限性:首先,在体肠灌流模型虽能精准反映药物在肠道内的局部吸收特性,但本研究未能评估药物经肠吸收后进入全身循环的完整药动学过程及最终生物利用度;其次,本研究尚未对SGD-SAN的具体跨膜转运途径(如网格蛋白或小窝蛋白介导的内吞、M细胞转运等)进行微观验证。

综上所述,SGD-SAN能够显著改善芍药内酯苷等活性成分的肠吸收效率,上述促吸收作用可能与其规避外排转运蛋白影响、兼具混合吸收模式有关。本研究从药剂学角度阐释了SGD“水煎服用”传统工艺的现代科学内涵,并揭示了SGD-SAN在改善口服吸收方面的潜在临床应用价值。

参考文献

[1] WU Y L, LI W X, ZHANG J H, et al. Shaoyao-gancao decoction, a famous Chinese medicine formula, protects against APAP-induced liver injury by promoting autophagy/mitophagy[J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156053.

[2] CHANG Z P, DENG G F, SHAO Y Y, et al. Shaoyao-gancao decoction ameliorates the inflammation state in polycystic ovary syndrome rats via remodeling gut microbiota and suppressing the TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 670054.

[3] 邱玲,尹蓉莉,申宝德,等.芍药苷脂质液晶纳米粒制备及体外释放研究[J].*中草药*, 2015, 46(23): 3495-3499.

[4] SHEN C Y, WEI X L, DU C Y, et al. Comparative evaluation of nano-assemblies from Shaoyao gancao decoction on paeoniflorin bioavailability[J]. *Int J Nanomedicine*, 2025, 20: 14313-14328.

[5] 罗子宸,张雯,杨瑞,等.甘草“调和诸药”生物药剂学机制的研究进展[J].*中草药*, 2021, 52(1): 267-277.

[6] SELYUTINA O Y, POLYAKOV N E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier: from physicochemical properties to biomedical applications: a modern insight on the ancient drug[J]. *Int J Pharm*, 2019, 559: 271-279.

[7] LI X, HU J P, WANG B L, et al. Inhibitory effects of herbal constituents on P-glycoprotein *in vitro* and *in vivo*: herb-drug interactions mediated via P-gp[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 275(2): 163-175.

[8] HOU Y C, LIN S P, CHAO P L. Licorice reduced cyclosporine bioavailability by activating P-glycoprotein and CYP3A[J]. *Food Chem*, 2012, 135(4): 2307-2312.

[9] SUN H J, WANG J F, LV J. Effects of glycyrrhizin on the pharmacokinetics of paeoniflorin in rats and its potential mechanism[J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 550-554.

[10] FANG C Q, WANG Y H, PAN Z. Formation of self-assembly aggregates in traditional Chinese medicine decoctions and their application in cancer treatments[J]. *RSC Adv*, 2025, 15(7): 5476-5506.

[11] 沈成英,胡菲,朱君君,等.中药自组装纳米粒的形成及应用研究进展[J].*中国中药杂志*, 2021, 46(19): 4875-4880.

[12] 沈成英,朱君君,戴博,等.芍药甘草汤自组装纳米粒的形成及其对白芍主要成分释放和吸收的影响[J].*中国中药杂志*, 2021, 46(9): 2190-2196.

[13] 沈成英,李小芳,朱君君,等.芍药甘草汤中自组装纳米粒形成对甘草主要成分体外释放和肠吸收的影响[J].*中国药房*, 2022, 33(3): 338-343.

[14] ZHAO Y Y, FAN Y, WANG M, et al. Studies on pharmacokinetic properties and absorption mechanism of phloretin: *in vivo* and *in vitro*[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132: 110809.

[15] 刘婉霞,陈瑞,班玉娟,等.基于在体单向肠灌流法探究刺囊酸的大鼠肠吸收特性[J].*中国新药杂志*, 2022, 31(10): 998-1002.

[16] 刘琦,徐新,王正根.毛蕊异黄酮对肝硬化大鼠肠黏膜屏障功能的影响及其机制[J].*吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(2): 391-398.

[17] 丁子涵,王楠,杨骏,等.芍药甘草汤在消化系统疾病中的应用及其作用机制研究进展[J].*中国中药杂志*, 2024, 49(23): 6311-6319.

[18] SHEN C Y, SHEN B D, ZHU J J, et al. Glycyrrhizic acid-based self-assembled micelles for improving oral bioavailability of paeoniflorin[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2021, 47(2): 207-214.

[19] JIANG T, SINGH B, LI H S, et al. Targeted oral delivery of BmpB vaccine using porous PLGA microparticles coated with M cell homing peptide-coupled chitosan[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(7): 2365-2373.

[20] 刘婷.基于纳米技术和立体选择性研究番茄红素的吸收转运机制[D].乌鲁木齐:新疆农业大学, 2024.

[21] 王爱萍,周萍,张涛,等.坤复康片中芍药内酯苷在Caco-2细胞模型中的吸收特征研究[J].*中国现代应用药学*, 2022, 39(1): 20-26.

[22] CHEN Y, WANG J Y, WANG L, et al. Absorption and interaction of the main constituents from the traditional Chinese drug pair Shaoyao-gancao via a Caco-2 cell monolayer model[J]. *Molecules*, 2012, 17(12): 14908-14917.

[23] CHEN R N, SHEN C L, XU Q Q, et al. The permeability characteristics and interaction of main components from Si-ni-san in a MDCK epithelial cell monolayer model[J]. *Xenobiotica*, 2021, 51(2): 239-248.

[24] 刘梦.芍药甘草汤的药动学和药物相互作用[D].天津:天津大学, 2018.

(收稿日期:2025-11-12 修回日期:2026-03-02)

(编辑:张元媛)