

达立通颗粒主要活性成分在正常及功能性消化不良模型大鼠胃肠道组织中差异分布研究

苏 艳¹, 康 安^{1*}, 赵 岩², 王晓霞², 邝振英², 盛先杰¹, 王广基³, 阿基业^{3*}

1. 南京中医药大学 药学院, 江苏 南京 210023

2. 南昌弘益药业有限公司, 江西 南昌 330096

3. 中国药科大学 江苏省药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009

摘要: 目的 研究达立通颗粒主要活性成分在正常和功能性消化不良(FD)模型大鼠胃肠道组织中的分布差异。方法 采用夹尾刺激结合不规律饮食双因素干预方法建立FD模型。12只大鼠(对照、模型各6只)用于FD模型验证,进行胃、小肠排空实验,HE染色后进行胃肠组织病理学观察;36只大鼠(对照、模型各18只)用于胃肠道组织差异分布研究,禁食不禁水18 h,按22.4 g·kg⁻¹剂量(8倍临床等效剂量)ig给予达立通颗粒1次,于给药后1、3、6 h收集各组大鼠的胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠。应用超高效液相色谱-串联四级杆/线性离子阱质谱(UPLC-QTRAP-MS/MS)法检测各组织牡荆素-4"-O-葡萄糖苷、原阿片碱、黄连碱、小檗碱、甜橙黄酮、川陈皮素、桔皮素、去甲基川陈皮素、木香炔内酯、去氢木香内酯、原儿茶酸、伞形花内酯、木犀草苷、橙皮苷、木犀草素、柚皮素、橙皮素、白杨素含量,采用ACQUITY HPLC™ HSS T₃ (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm)色谱柱,柱温为40℃,0.1%甲酸水-乙腈为流动相,梯度洗脱,体积流量为0.3 mL·min⁻¹,进样量为2 μL。结果 与对照组比较,模型组大鼠体重显著降低($P<0.001$),胃、小肠排空率显著降低($P<0.001$),十二指肠肠黏膜的紧密连接被破坏,但未出现胃肠组织的器质性病变,符合FD的病理特征。建立的UPLC-QTRAP-MS/MS方法中,各化合物线性关系良好, $R^2\geq 0.990$ 。对建立的检测方法进行专属性、精密度与准确度、提取回收率、稳定性和基质效应等方面的考察,均符合要求。各成分在对照和模型组大鼠胃肠道组织中浓度差异明显,且在各组织中达到最高浓度的时间点差异较大,模型组出现达峰时间延后的现象;与对照组比较,模型组大鼠胃组织中化合物的暴露水平降低,可能与FD引起胃肠道蠕动减慢有关。橙皮苷、橙皮素、柚皮素、原儿茶酸、去氢木香内酯、川陈皮素、去甲基川陈皮素、小檗碱和桔皮素在胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠中暴露水平较高,且在对照组和模型组中各时间点下的浓度差异较显著。结论 经方法学验证,所建立的UPLC-QTRAP-MS/MS法灵敏、专属性强、准确性高,适用于大鼠胃肠道组织中达立通颗粒主要活性成分的胃肠组织分布研究。达立通颗粒主要活性成分在正常和FD模型大鼠胃肠组织分布具有显著性差异。

关键词: 达立通颗粒; 功能性消化不良; UPLC-QTRAP-MS/MS; 橙皮苷; 橙皮素; 柚皮素; 原儿茶酸; 去氢木香内酯; 川陈皮素; 去甲基川陈皮素; 小檗碱; 桔皮素

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 05-1017-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.05.012

Differential distribution of main active components in Dalitong Granules in gastrointestinal tissues of normal and functional dyspepsia model rats

SU Yan¹, KANG An¹, ZHAO Yan², WANG Xiaoxia², KUANG Zhenying², SHENG Xianjie¹, WANG Guangji³, AA Jiye³

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Nanchang Helioeast Pharmaceutical Co., Ltd., Nanchang 330006, China

3. Jiangsu Key Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

收稿日期: 2024-01-23

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(CIFMS:2021-I2M-5-011);江苏省前沿引领技术基础研究专项拟立项目(BK20192005)

第一作者: 苏 艳,硕士研究生,研究方向为中药质量控制技术与方法。E-mail: 20200892@njucm.edu.cn

*通信作者: 康 安,副教授,研究方向为药物代谢动力学。E-mail: kanga@njucm.edu.cn

阿基业,教授,主要从事药物代谢动力学、代谢组学与药代动力学研究结合、代谢与药物毒性/药效作用机制研究等。

E-mail: jiyea@cpu.edu.cn

Abstract: Objective The aim of this study was to explore the gastrointestinal tissue distribution differences of the main active compounds from *Dalitong granules* in normal and functional dyspepsia model rats. **Method** The rat model of FD was established by tail clipping stimulation combined with irregular diet (alternate day fasting). 12 rats (half of them as controls and half as models) were used to validate the FD model, and gastric and small intestinal emptying experiments were conducted. After HE staining, pathological observations were made on the gastrointestinal tissues. 36 rats (half as controls and half as models) were used for the study of differential distribution of gastrointestinal tissues, and they were fasted but not water-restricted for 18 hours. They were given Dalitong Granules at a dose of $22.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (8 times the clinical equivalent dose) once, and the gastric, duodenum, jejunum, ileum, and colon were collected from each group of rats at 1, 3, and 6 hours after the administration of the drug. The contents of vitexin-4''-*O*-glucoside, protopine, coptisine, berberine, sinensetin, nobiletin, tangeretin, 5-*O*-demethylnobiletin, costunolide, dehydrocostuslactone, protocatechuic acid, umbelliferone, cynaroside, hesperidin, luteolin, naringin, hesperetin, and chrysin were detected by UPLC-QTRAP-MS/MS method in the gastric, duodenum, jejunum, ileum, and colon of each group of rats. UPLC-QTRAP-MS/MS was used. Column was an ACQUITY HPLCTM HSS T₃ (50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) and set at 40 °C. Gradient elution was performed using 0.1% formic acid water and acetonitrile as the mobile phase, the flow rate was $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the injection volume was 2 μL. **Results** Compared with the control group, the body mass of rats in the model group was significantly decreased ($P < 0.001$), the emptying rate of the stomach and small intestine was significantly decreased ($P < 0.001$), the close connection of the duodenal mucosa was destroyed, but no organic lesions of the gastrointestinal tissue were found, which was consistent with the pathological characteristics of FD. For the established UPLC-QTRAP-MS/MS method, the correlation between the response and concentration of the compounds in gastrointestinal tissues met $R^2 \geq 0.990$. The results including the specificity, precision and accuracy, recovery rate, stability and matrix effects of the established method all met the requirements. The results showed that the concentration of the components varied greatly in the control group and the functional dyspepsia model group, and there were significant differences in the time points at which the highest concentration was reached in different tissues. In the control gastric tissue of rats, the tested compounds quickly reached the highest concentration within 1 h. However, the concentration of compounds decreased significantly, which is partially due to slow gastrointestinal motility in the model group. Hesperidin, hesperetin, naringin, protocatechuic acid, dehydrocostuslactone, nobiletin, 5-*O*-demethylnobiletin, berberine, and tangeretin were found to be exposed at higher levels in the stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon, and the concentration differences between the control group and the model group at each time point were significant. **Conclusion** The established method has high sensitivity, specificity and high accuracy, which was suitable for the tissue distribution study of the main active compounds of *Dalitong granules* in the rat gastrointestinal tissues. Significant differences were showed in the tissue of the functional dyspepsia model rats compared to control.

Key words: Dalitong Granules; functional dyspepsia; UPLC-QTRAP-MS/MS; hesperidin; hesperetin; naringin; protocatechuic acid; dehydrocostuslactone; nobiletin; 5-*O*-demethylnobiletin; berberine; tangeretin

消化不良按照其疾病诱因可大致分为2类,包括“器质性”消化不良(OD)和“功能性”消化不良(FD)^[1-2]。后者属于排除明显的器质性、代谢性、系统性病变,具有伴餐后加重的上腹部胀痛、灼热、令人烦恼的反复出现的餐后饱腹感、气逆不顺、食欲低下、恶心、呕吐等症状^[3-4]。随着生活水平的不断提高,饮食习惯的不断改变,消化系统疾病的患病率、复发率呈现逐年增长的趋势。其中,FD的占比逐年增高,对患者的精神情绪和生活品质造成极大影响^[5-6]。目前,FD的治疗选择仍然有限,在大多数情况下只是对症治疗^[7]。

达立通颗粒是由南昌弘益药业有限公司生产促胃肠动力中药,临床上用于治疗FD、胃轻瘫和慢性胃炎等胃肠综合征。达立通颗粒含12味中药,以柴胡和枳实为君药,柴胡始载于《神农本草经》,具

有疏肝退热和升阳举陷的功效,其主要化学成分为三萜皂苷类,可促进胃肠蠕动,润肠通便,抑制胰蛋白酶、胃酸分泌及抗溃疡;枳实主要化学成分为黄酮和挥发油类,可增加肠蠕动频率,具有行气抗炎、破气消积和化痰散痞的功效。以木香、陈皮、清半夏为臣药,蒲公英、焦山楂、焦槟榔、鸡矢藤、党参、延胡索、六神曲(炒)为佐药^[8-9]。山楂富含有机酸,有调理胃肠功能的作用;延胡索的主要成分为延胡索碱、延胡索乙素、紫堇碱、小檗碱等生物碱类,具有缓解疼痛和抑制胃酸分泌的作用。

由于达立通颗粒中药材众多、所含化学成分复杂且难以分离,目前国内尚无全面的关于其活性成分在胃肠道组织分布方面的文献报道。本研究达立通颗粒中主要活性成分(图1)在正常及FD模型大鼠胃肠道组织中分布及差异,为研究其治疗

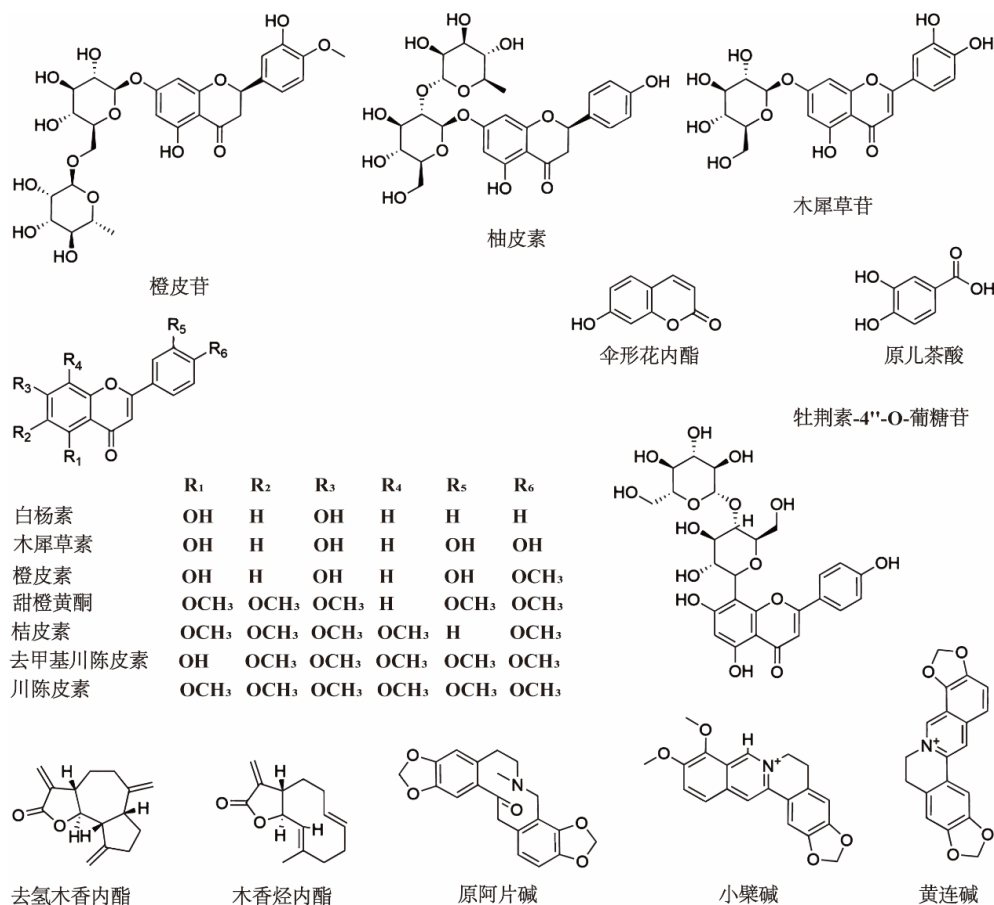


图1 待测化合物结构

Fig. 1 Structures of test compounds

FD药效物质基础提供一定的数据支撑,助力推动其现代化发展^[10]。

1 材料

1.1 主要仪器

AB SCIEX Q-TRAP™ 6500 质谱仪(美国 AB Sciex 公司);LC-20A 快速液相仪(日本 Shimadzu 公司);Speed Vac 离心浓缩仪(美国 Thermo Scientific 公司);ER-2000A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司);高速组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);UC7 超薄切片机(Leica 公司);HT7700 透射电子显微镜(hitachi 公司)。

1.2 药物及主要试剂

达立通颗粒(批号 210342,规格 6 g×9 袋)由南昌弘益药业有限公司提供。乙腈、甲醇(色谱纯,德国默克公司);甲酸(色谱纯,阿拉丁试剂有限公司);乙醇(分析纯,南京化学试剂股份有限公司);无水乙醇、丙酮(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);电镜固定液(批号 G1102)由武汉赛维尔生物科技有限公司提供;纯水(实验室自制)。原儿茶

酸(批号 JOT-10315)、黄连碱(批号 JOT-10440)、小檗碱(批号 JOT-11648)、原阿片碱(批号 JOT-10337)、伞形花内酯(批号 JOT-11244)、牡荆素 4''-O-葡萄糖苷(批号 JOT-11732)和白杨素(批号 FX-10187)购自成都普菲德生物科技有限公司;橙皮苷(批号 M05M8S35241)、木犀草素(批号 YY20110606)和淀粉(批号 S28078-500g)购自上海源叶生物科技有限公司;橙皮素(批号 RFS-C01711811029)、木犀草苷(批号 RFS-M02501909016)、木香炔内酯(批号 RFS-M02211804027)、去氢木香内酯(批号 RFS-Q01601906013)、甜橙黄酮(批号 RFS-T04611812016)、川陈皮素(批号 RFS-C01511803006)、桔皮素(批号 RFS-J02211807030)、柚皮素(批号 Y-030-190812)和去甲基川陈皮素(批号 Q12602112010)购自成都瑞芬思生物科技有限公司。活性炭(批号 20120129)购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 180~220 g,购

自杭州医学院,实验动物生产许可证号为SCXK(浙)2019-0002。动物实验通过南京中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准号为202210A015。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 达立通颗粒药液的制备 称取适量达立通颗粒研磨成细粉,加入适量纯水后,超声振荡30 min。配得质量浓度为 $2.8 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的达立通颗粒药液,置于 4°C 冰箱保存。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称定18个对照品适量,分别溶于甲醇中作为各对照品储备液,吸取各对照品储备液适量混匀,制成混合对照品储备液,该储备液中各化合物质量浓度如下:原儿茶酸 $18.80 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、黄连碱 $16.65 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、小檗碱 $17.86 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、原阿片碱 $15.03 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、伞形花内酯 $14.97 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、白杨素 $25.05 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、橙皮苷 $15.20 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、木犀草素 $15.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甜橙黄酮 $17.37 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、木犀草苷 $15.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、木香烃内酯 $15.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、牡荆苷 $4''\text{-O-葡萄糖苷}$ $15.87 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、去氢木香内酯 $15.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、去甲基川陈皮素 $15.2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、桔皮素 $15.85 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、柚皮素 $18.55 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、橙皮素 $14.65 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和川陈皮素 $15.45 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.1.3 混合内标溶液的制备 精密称定正离子模式内标化合物氟西汀和负离子模式内标化合物双氯芬酸适量,加乙腈制成质量浓度为 $300 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合内标溶液。

2.1.4 实验餐的配制 实验餐配方如下:2.5 g CMC-Na充分溶于50 mL热水中,制成透明黏稠半固体,分别依次加入4 g脱脂奶粉和2 g淀粉,充分搅拌均匀后,再加入1 g活性炭,加水至62.5 mL,即得黑色半固体糊状实验餐。

2.2 动物实验

2.2.1 FD模型的建立及给药 48只SD大鼠,购入后适应性饲养7 d,期间自由饮食,12 h昼夜循环,随机分为对照组和模型组。模型组大鼠均采用夹尾刺激结合不规律饮食双因素干扰建立FD模型,具体操作如下:为避免皮肤损伤,使用纱布包裹后的长海绵握钳,夹住大鼠尾巴远端三分之一处。每次刺激持续30 min,每天4次(分别在9:00、12:00、15:00和18:00时进行),伴随隔日禁食,连续14 d。造模14 d后,禁食不禁水18 h,用于胃肠道组织差异分布研究的36只大鼠(对照和模型各18只)按

$22.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量(8倍临床等效剂量)ig给予达立通颗粒药液1次。

2.2.2 胃排空和肠推进实验 用于FD模型验证的12只大鼠(对照和模型各6只),为排除大鼠胃中饲料干扰,需在实验前对大鼠禁食18 h,期间保持饮水正常。禁食18 h后给予每只 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 实验餐(质量记为 $W_{\text{实}}$),40 min后脱颈处死。迅速打开大鼠腹腔,结扎胃前后两端,取出后称量获得胃全重($W_{\text{全}}$)。沿胃大弯一侧切开整胃,用0.9%氯化钠溶液轻轻洗掉胃内实验餐残渣,拭干后称量胃净重($W_{\text{净}}$)。取大鼠整段小肠,平铺于白纸上,测量幽门至实验餐前沿($L_{\text{前}}$)及整段小肠的长度($L_{\text{总}}$),代入公式求得胃排空率和小肠推进率。随后取下十二指肠,同胃组织一起储存于 -80°C 冰箱。

$$\text{胃排空率} = (W_{\text{全}} - W_{\text{净}}) / W_{\text{实}}$$

$$\text{小肠推进率} = L_{\text{前}} / L_{\text{总}}$$

2.2.3 胃肠组织病理学观察 将4%多聚甲醛固定后的胃窦组织进行石蜡包埋,制备蜡块后切片,采用HE染色法制备病理切片,倒置荧光显微镜下观察。

将电镜固定液 4°C 固定2~4 h后的 1 mm^3 十二指肠切片,用PBS漂洗3次各15 min,同样方法后固定。随后乙醇-丙酮梯度脱水,还氧丙烷置换10 min,丙酮和812包埋剂渗透过夜后包埋。聚合后制成60~80 nm超薄切片,铀铅双染色各15 min,透射电镜下观察。

2.2.4 组织样品收集与处理 用于胃肠道组织差异分布研究的36只大鼠,于给药后1、3、6 h收集各组大鼠的组织样品,包括:胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠。胃部组织和各肠管取出后立即用0.9%氯化钠溶液冲洗,拭干后置于5 mL EP管中, -80°C 冷冻保存。分别取各时间点组织样品约200 mg置于2 mL EP管中,加入800 μL PBS制成匀浆,转移至5 mL EP管中,加3倍量乙腈振荡10 min以沉淀蛋白,于 $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心2次,每次10 min,随后取出上清挥干,加入200 μL 乙腈(或含内标乙腈)溶解, $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min后取上清进样。

2.3 检测条件

2.3.1 色谱条件 色谱柱:ACQUITY HPLCTM HSS T₃ 色谱柱($50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $1.8 \text{ } \mu\text{m}$),柱温 40°C ,流动相为0.1%甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~1 min,20% B;1~2 min,40% B;2~3 min,60% B;3~8 min,90% B;8.0~8.5 min,20% B;8.5~

10.0 min, 0% B。体积流量为0.3 mL·min⁻¹, 进样量为2 μL。

2.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), MRM 数据采集模式, 离子源温度(TEM)550 °C, 气帘气(CUR)275.79 kPa, 雾化气(GS1)413.68 kPa, 辅助加热气(GS2)413.68 kPa, 离子源喷雾电压(IS)4 500 V/-4 500 V。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性评价 取空白大鼠胃和各肠段组织样品以及加入混合对照品溶液和内标的空白大鼠胃和各肠段组织样品, 按照“2.2.4”项下处理后, 进行UPLC-QTRAP-MS/MS进样分析。

各化合物优化后的质谱参数见表1。如图2所

示为空白溶液、混合对照品溶液、胃组织和空肠组织中18个待测化合物的提取离子流图。本实验检测条件下, 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷、原阿片碱、黄连碱、小檗碱、甜橙黄酮、川陈皮素、桔皮素、去甲基川陈皮素、木香炔内酯、去氢木香内酯、氟西汀、原儿茶酸、木犀草苷、伞形花内酯、橙皮苷、木犀草素、柚皮素、橙皮素、白杨素和双氯芬酸出峰保留时间分别为: 1.75、2.21、2.55、3.00、4.22、4.49、4.78、5.07、5.43、5.58、3.78、1.51、1.86、1.94、2.28、3.10、3.58、3.74、4.42、5.42 min, 各峰之间无交叉重叠, 对照组织样本在上述时间点均无明显干扰峰出现。结果表明此方法具有较高的专属性, 适合达立通颗粒中各成分的含量测定^[11]。

表1 待测化合物及内标的MRM定量参数
Table 1 Parameters for MRM of test compounds and IS

待测化合物名称	优化后质谱参数				
	母离子 Q1 (m/z)	子离子 Q3 (m/z)	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/eV	碰撞室出口电压 CXP/eV
牡荆素-4"-O-葡萄糖苷	595.1	433.2	26	27	36
原阿片碱	353.9	188.1	166	41	14
黄连碱	320.1	292.1	161	39	8
小檗碱	336.0	320.1	106	41	10
甜橙黄酮	373.1	343.2	64	37	28
川陈皮素	403.1	373.1	121	29	12
桔皮素	373.0	343.1	106	35	12
去甲基川陈皮素	389.1	169.0	75	59	14
木香炔内酯	233.0	187.1	91	49	14
去氢木香内酯	231.0	185.1	76	19	14
氟西汀 ¹⁾	310.1	148.1	71	11	10
原儿茶酸	153.0	108.9	-50	-20	-7
伞形花内酯	160.7	133.0	-180	-26	-9
木犀草苷	447.1	285.0	-100	-36	-19
橙皮苷	609.2	301.1	-195	-32	-19
木犀草素	301.2	255.2	-55	-16	-21
柚皮素	271.1	150.9	-105	-24	-11
橙皮素	301.1	151.0	-245	-30	-19
白杨素	253.0	143.0	-205	-36	-15
双氯芬酸 ¹⁾	295.0	250.9	-45	-16	-9

1)-内标。
1)-internal standard.

2.4.2 线性关系考察 取一系列浓度的混合对照品溶液, 按“2.3”项下条件进行测定。以各待测化合物质量浓度为横坐标, 以化合物与内标的峰面积比值为纵坐标, 进行线性回归分析并绘制标准曲线, 并按信噪比(S/N)=3测定各成分的检测限(LOD),

S/N=10测定各成分的定量限(LOQ)。
线性关系考察结果表明, 在胃肠组织中, 11个黄酮类化合物的相关系数(R²)在0.990 0~0.999 8, 7个非黄酮类化合物的R²均在0.990 9~0.999 4, 线性关系良好, 符合要求。结果

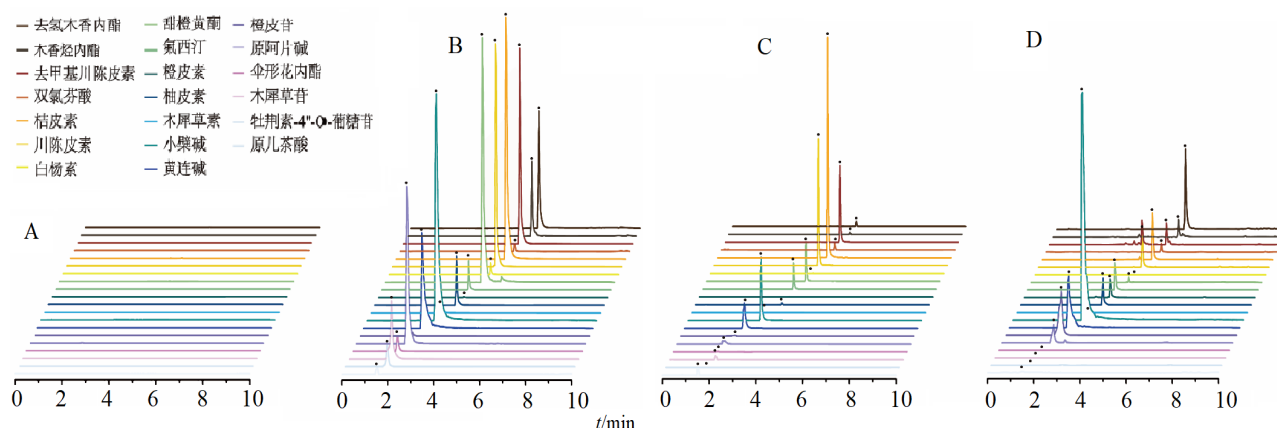


图 2 空白溶液(A)、混合对照品溶液(B)、胃组织(C)和空肠组织(D)中各成分MRM色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of components in blank solution (A), mixed reference solution (B), gastric tissue (C), and jejunal tissue (D)

见表 2。

2.4.3 精密度与回收率 配制低、中、高 3 个质量浓度的质控样品,各化合物质量浓度要求如下:低质量浓度为 2 LOQ,中质量浓度为 0.2 定量上限(ULOQ),高质量浓度为 0.8 ULOQ, $n=6$,进行精

密度考察,批间精密度在批内基础上连续考察 3 d。另取 6 份不同来源的空白大鼠胃肠组织制备低、中、高 3 个质量浓度的质控样品,经蛋白沉淀处理后取上清进样分析,各化合物峰面积与内标峰面积的比值记为 R_1 ;另取 6 份不同来源的空白大鼠胃肠组织,

表 2 各组织中待测化合物的回归方程、相关系数、线性范围、检测限和定量限

Table 2 Linear equation, correlation coefficient, linearity and range, limit of detection and limit of quantification of test compounds in different gastrointestinal tissues

化合物	样品	回归方程	相关系数	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
牡荆素-4'-O-葡萄糖苷	胃部	$Y=0.000\ 186\ X+0.000\ 196$	0.997 3	3.10~1 586.50	0.37	3.09
	十二指肠	$Y=0.000\ 508\ X+0.000\ 237$	0.995 2			
	空肠	$Y=0.000\ 202\ X+0.000\ 033\ 2$	0.993 4			
	回肠	$Y=0.000\ 162\ X+0.000\ 044\ 9$	0.997 3			
原阿片碱	胃部	$Y=0.041\ 8\ X+0.001\ 33$	0.997 6	0.70~1 880.00	0.10	0.70
	十二指肠	$Y=0.033\ 4\ X+0.002\ 04$	0.991 7			
	空肠	$Y=0.037\ 3\ X+0.003\ 17$	0.994 2			
	回肠	$Y=0.050\ 4\ X+0.026\ 9$	0.999 4			
黄连碱	胃部	$Y=2.05\ X+0.15$	0.991 9	0.80~1 665.00	0.20	0.80
	十二指肠	$Y=0.023\ 1\ X+0.052\ 4$	0.997 0			
	空肠	$Y=0.016\ 8\ X+0.008\ 68$	0.992 4			
	回肠	$Y=0.021\ 8\ X+0.071\ 6$	0.997 7			
小檗碱	胃部	$Y=0.036\ 6\ X+0.012\ 8$	0.997 2	3.50~446.50	0.80	3.50
	十二指肠	$Y=0.647\ X+0.041\ 2$	0.990 8			
	空肠	$Y=0.106\ X+0.23$	0.992 9			
	回肠	$Y=0.062\ X+0.138$	0.996 2			
甜橙黄酮	胃部	$Y=0.138\ X+0.093\ 5$	0.998 5	1.70~868.40	0.21	1.70
	十二指肠	$Y=0.403\ X-0.032\ 4$	0.997 2			
	空肠	$Y=0.007\ 10\ X+0.115$	0.990 9			
	回肠	$Y=0.082\ 8\ X+0.025\ 2$	0.990 5			
	胃部	$Y=0.052\ 6\ X+0.050\ 1$	0.997 7			
	空肠	$Y=0.144\ X+0.013\ 5$	0.990 1			

第 47 卷 第 5 期		2024 年 5 月	药物评价研究	Drug Evaluation Research	Vol. 47 No. 5 May 2024		· 1023 ·
表 2(续)							
化合物	样品	回归方程	相关系数	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)	
川陈皮素	回肠	$Y=0.093\ 3\ X+0.011\ 5$	0.992\ 5	0.20~1 545.00	0.02	0.19	
	结肠	$Y=0.004\ 63\ X+0.002\ 25$	0.997\ 0				
	胃部	$Y=0.040\ 1\ X+0.121$	0.993\ 7				
	十二指肠	$Y=0.038\ 7\ X+0.045\ 9$	0.993\ 0				
	空肠	$Y=0.040\ 1\ X+0.121$	0.999\ 4				
桔皮素	回肠	$Y=0.055\ 6\ X+0.061\ 7$	0.992\ 5	0.80~792.50	0.30	0.77	
	结肠	$Y=0.002\ 61\ X+0.005\ 32$	0.992\ 7				
	胃部	$Y=0.013\ 3\ X+0.000\ 188$	0.999\ 6				
	十二指肠	$Y=0.051\ 7\ X+0.014\ 3$	0.995\ 4				
	空肠	$Y=0.053\ 8\ X+0.000\ 244$	0.991\ 8				
去甲基川陈皮素	回肠	$Y=0.096\ 6\ X+0.041$	0.993\ 9	0.40~1 529.00	0.18	0.37	
	结肠	$Y=2.63\ X+0.213$	0.993\ 5				
	胃部	$Y=0.001\ 92\ X-0.011$	0.990\ 1				
	十二指肠	$Y=0.03\ X+0.002\ 37$	0.992\ 6				
	空肠	$Y=0.031\ 6\ X+0.006\ 28$	0.990\ 1				
木香烯内酯	回肠	$Y=0.021\ 8\ X+0.016\ 1$	0.996\ 4	5.90~757.00	2.96	5.86	
	结肠	$Y=0.030\ 4\ X+0.002\ 94$	0.996\ 7				
	胃部	$Y=0.000\ 641\ X+0.143$	0.996\ 3				
	十二指肠	$Y=0.375\ X+0.065\ 9$	0.998\ 4				
	空肠	$Y=0.009\ 71\ X+0.16$	0.994\ 5				
去氢木香内酯	回肠	$Y=0.118\ X+0.131$	0.993\ 7	1.50~757.00	0.40	1.48	
	结肠	$Y=0.000\ 29\ X+0.000\ 685$	0.994\ 3				
	胃部	$Y=0.003\ 44\ X+0.546$	0.998\ 7				
	十二指肠	$Y=0.009\ 76\ X+0.589$	0.995\ 3				
	空肠	$Y=0.020\ 5\ X+0.432$	0.993\ 5				
原儿茶酸	回肠	$Y=0.005\ 36\ X+0.587$	0.998\ 8	25.60~3 760.00	7.30	25.60	
	结肠	$Y=0.000\ 14\ X+0.306$	0.999\ 2				
	胃部	$Y=0.001\ 38\ X+0.071\ 6$	0.992\ 3				
	十二指肠	$Y=0.003\ 04\ X+0.037\ 6$	0.999\ 2				
	空肠	$Y=0.006\ 37\ X+0.009\ 57$	0.996\ 7				
伞形花内酯	回肠	$Y=0.042\ 4\ X+0.01$	0.994\ 1	5.49~2 993.00	2.93	5.49	
	结肠	$Y=0.000\ 389\ X-0.049$	0.990\ 0				
	胃部	$Y=0.010\ 9\ X+0.006\ 53$	0.995\ 9				
	十二指肠	$Y=0.007\ 09\ X+0.002\ 5$	0.998\ 2				
	空肠	$Y=0.013\ 1\ X+0.000\ 85$	0.997\ 4				
木犀草苷	回肠	$Y=0.014\ 1\ X+0.002\ 59$	0.994\ 2	11.70~3 004.00	2.90	11.73	
	结肠	$Y=0.001\ 19\ X+0.027\ 6$	0.992\ 1				
	胃部	$Y=0.023\ 5\ X+0.000\ 433$	0.992\ 0				
	十二指肠	$Y=0.038\ 7\ X+0.004\ 59$	0.993\ 0				
	空肠	$Y=0.027\ 6\ X+0.001\ 46$	0.994\ 7				
橙皮苷	回肠	$Y=0.002\ 66\ X-0.005\ 76$	0.996\ 7	0.40~760.00	0.18	0.37	
	结肠	$Y=0.000\ 377\ X-0.006\ 82$	0.990\ 0				
	胃部	$Y=0.001\ 16\ X+0.005\ 37$	0.994\ 3				
	十二指肠	$Y=0.000\ 305\ X+0.009\ 58$	0.993\ 5				
	空肠	$Y=0.023\ 91\ X+0.005\ 12$	0.994\ 7				

表2(续)

化合物	样品	回归方程	相关系数	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
木犀草素	回肠	$Y=0.206 X-0.127$	0.992 3	14.90~3 004.00	6.09	14.87
	结肠	$Y=0.000 31 X+0.008 67$	0.993 2			
	胃部	$Y=0.004 5 X+0.001 12$	0.999 8			
	十二指肠	$Y=0.002 86 X+0.001$	0.996 0			
	空肠	$Y=0.005 71 X+0.001 31$	0.998 1			
柚皮素	回肠	$Y=0.005 95 X+0.003 17$	0.990 5	1.80~927.50	0.50	1.81
	结肠	$Y=0.000 009 9 X+0.001 01$	0.994 9			
	胃部	$Y=0.019 9 X-0.000 001 74$	0.998 9			
	十二指肠	$Y=0.013 7 X+0.003 48$	0.990 0			
	空肠	$Y=0.023 9 X+0.008 23$	0.995 7			
橙皮素	回肠	$Y=0.024 5 X+0.034 1$	0.990 0	4.60~732.50	0.36	4.58
	结肠	$Y=0.008 14 X-0.003 1$	0.990 0			
	胃部	$Y=0.000 276 X+0.001 06$	0.997 1			
	十二指肠	$Y=0.000 078 8 X+0.005$	0.995 0			
	空肠	$Y=0.001 17 X+0.001 96$	0.995 5			
白杨素	回肠	$Y=0.061 4 X-0.017 2$	0.994 9	0.40~626.30	0.04	0.38
	结肠	$Y=0.000 075 3 X-0.001 65$	0.991 6			
	胃部	$Y=0.004 58 X+0.002 56$	0.995 4			
	十二指肠	$Y=0.003 25 X+0.009 69$	0.997 9			
	空肠	$Y=0.004 49 X+0.003 14$	0.992 0			
	回肠	$Y=0.005 86 X+0.002 32$	0.999 4			
	结肠	$Y=0.005 42 X+0.008 93$	0.992 7			

按“2.2.4”项下处理后进样分析(分别用低、中、高3个质量浓度的质控溶液复溶),各化合物峰面积与内标峰面积的比值记为 R_2 ;以 R_1/R_2 计算提取回收率。

低、中、高质控样品精密度考察结果均符合 $RSD<15\%$ 要求。11个黄酮类化合物批内精密度 RSD 为 $1.74\%\sim 12.89\%$,批间精密度 RSD 为 $2.30\%\sim 12.29\%$ 。7个非黄酮类化合物批内精密度 RSD 为 $2.16\%\sim 13.52\%$,批间精密度 RSD 为 $2.72\%\sim 12.10\%$ 。以上结果表明本实验所用设备精密度良好,满足要求。

另外,黄酮类待测化合物的提取回收率均在 $(91.76\pm 7.63)\%\sim (111.10\pm 7.10)\%$,非黄酮类待测化合物的提取回收率均在 $(93.08\pm 7.02)\%\sim (112.09\pm 9.71)\%$,均符合 $80\%\sim 120\%$ 要求。

2.4.4 稳定性考察 取空白大鼠胃和各肠段组织样品,配制低、中、高3个质量浓度的混合对照品溶液($n=6$),按“2.2.4”项下处理。按“2.3”项下条件分别检测常温放置8 h,自动进样器放置24 h, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和常温反复冻融3次以及冻存2周后样品的稳

定性。

含药胃肠组织样本经“2.2.4”项下处理后,置于室温8 h后检测,所有待测化合物的 RSD 为 $2.09\%\sim 14.54\%$ 。例如川陈皮素 RSD 为 $4.21\%\sim 11.78\%$,桔皮素 RSD 为 $3.04\%\sim 4.51\%$ 。置于自动进样器中24 h后检测,所有待测化合物的 RSD 为 $1.73\%\sim 14.71\%$,例如柚皮素 RSD 为 $3.29\%\sim 13.00\%$,橙皮素 RSD 为 $4.07\%\sim 10.97\%$ 。 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱和室温反复冻融3次后检测,所有待测化合物的 RSD 为 $1.83\%\sim 14.80\%$,例如原阿片碱 RSD 为 $2.32\%\sim 7.11\%$,黄连碱 RSD 为 $5.25\%\sim 5.26\%$ 。冻存2周后检测,所有待测化合物的 RSD 为 $1.47\%\sim 14.57\%$,例如小檗碱 RSD 为 $1.74\%\sim 4.14\%$,甜橙黄酮 RSD 为 $3.37\%\sim 9.23\%$ 。18个待测化合物含量均符合 $RSD\leq 15\%$,表明在上述条件下样品基本稳定^[12]。

2.4.5 基质效应 取6份来源不同的空白大鼠胃及肠组织,按“2.2.4”项下处理(分别加入低、中、高3个质量浓度的质控溶液复溶)。按“2.3”项下条件进样后,各化合物峰面积与内标峰面积的比值比上对应质量浓度的质控样品峰面积与内标峰面积的比值,记为基质因子。

本实验评价了6只大鼠空白胃肠中低、中、高质量浓度水平的基质效应,单个来源基质的基质效应为 $(90.29 \pm 5.73)\% \sim (108.28 \pm 3.47)\%$,均符合要求,表明各待测化合物的含量测定不受基质的影响^[13]。

3 结果

3.1 动物模型验证

3.1.1 动物体质量监测 如图3所示,实验开始时各大鼠体质量无明显差异。在模型组经夹尾刺激结合不规则饮食造模7 d后,对照组大鼠平均体质量近248 g,模型组平均体质量近211 g,相较于对照组,有显著降低($P < 0.001$)。继续造模至第14天,对照组大鼠平均体质量近316 g,模型组平均体质量约为263 g,显著降低($P < 0.001$)。

3.1.2 胃肠运动考察 胃排空率和肠推进率是评估胃肠功能的重要指标,图3-B、C分别为胃排空和小肠推进结果。对照组大鼠平均胃排空率为 $(63.22 \pm 6.37)\%$,平均小肠推进率为 $(72.18 \pm 1.32)\%$ 。而模型组大鼠平均胃排空率为 $(27.17 \pm 5.70)\%$,平均小肠推进率为 $(58.26 \pm 2.30)\%$,胃肠运动指标均显著低于对照组($P < 0.001$)。以上指标表明本实验所采用的造模方法能够显著减慢大鼠胃肠运动,引起胃肠功能障碍^[14]。

3.1.3 胃肠病理学考察 图3-D为胃组织H&E染

色结果,模型组大鼠的胃部HE染色与对照组大致相同,胃黏膜上皮结构完整,细胞无坏死且排列紧密,固有层腺体、黏膜下层和肌层未见坏死。图3-E为十二指肠透射电镜结果,对照组十二指肠微绒毛排列紧密,细胞间紧密连接结构清晰。模型组十二指肠肠黏膜存在较多紧密连接不完全且连续性遭到破坏。以上指标表明经过本实验采用的造模方法造模后,十二指肠肠黏膜的紧密连接被破坏,但未出现胃肠组织的器质性病变,符合FD的病理特征。

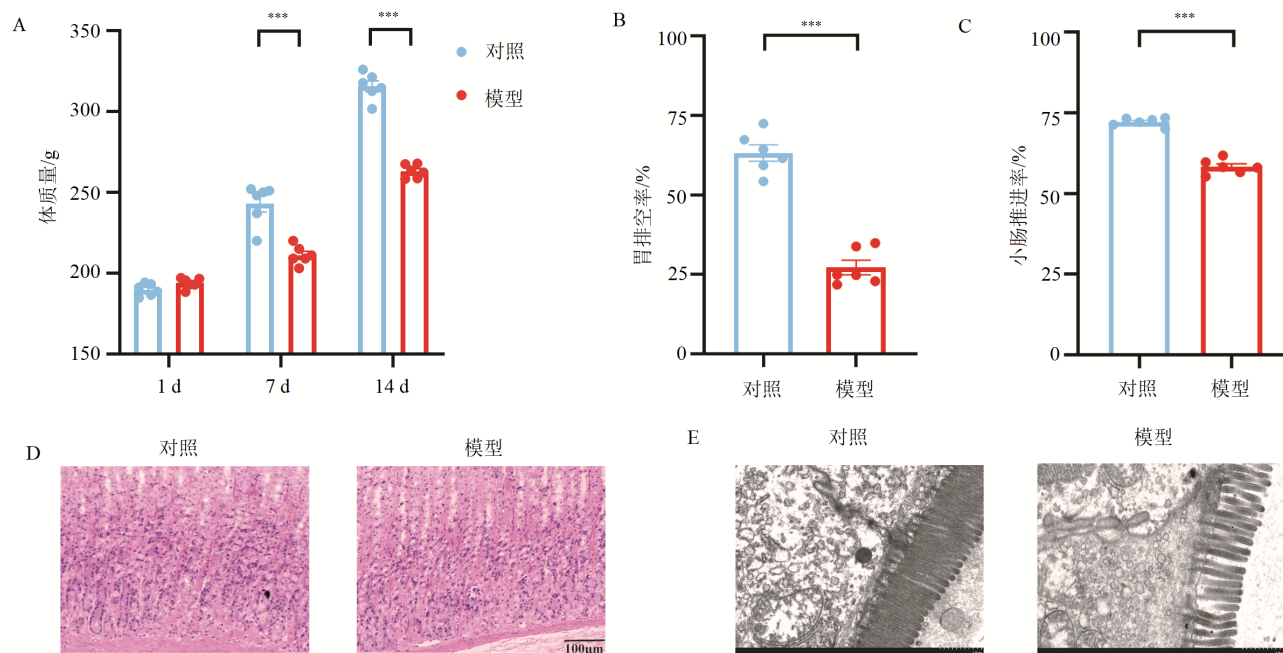
本实验建立的FD模型能够较好地模拟FD的病理特征,并可在此基础上继续进行达立通颗粒中主要活性成分在对照组和FD模型组大鼠胃肠道中的分布及吸收代谢差异研究^[15-16]。

3.2 组织分布差异研究

结合文献报道及课题组前期对达立通颗粒体内成分分析的结果^[4],选择达立通颗粒中含量较高、对照品易得、可测的18个成分进行胃肠道中的组织分布及对照组和FD模型组大鼠分布差异研究。

3.2.1 黄酮类化合物分布差异研究

大鼠给药达立通颗粒后,主要黄酮类活性成分在对照组和FD模型组大鼠体内各胃肠组织中1、3、6 h的组织分布情况见图4。结果表明,11个黄酮类成分在对照组和FD模型组中质量浓度差异显著,



与对照组比较:*** $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group.

图3 大鼠ig达立通颗粒后体质量(A)、胃排空(B)、小肠推进(C)、HE染色(D)和透射电镜(E)结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Weight (A), gastric emptying rate (B) and intestinal propulsion rate (C), HE staining (D), TEM of duodenum (E) after intragastric administration of Dalitong Granules in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

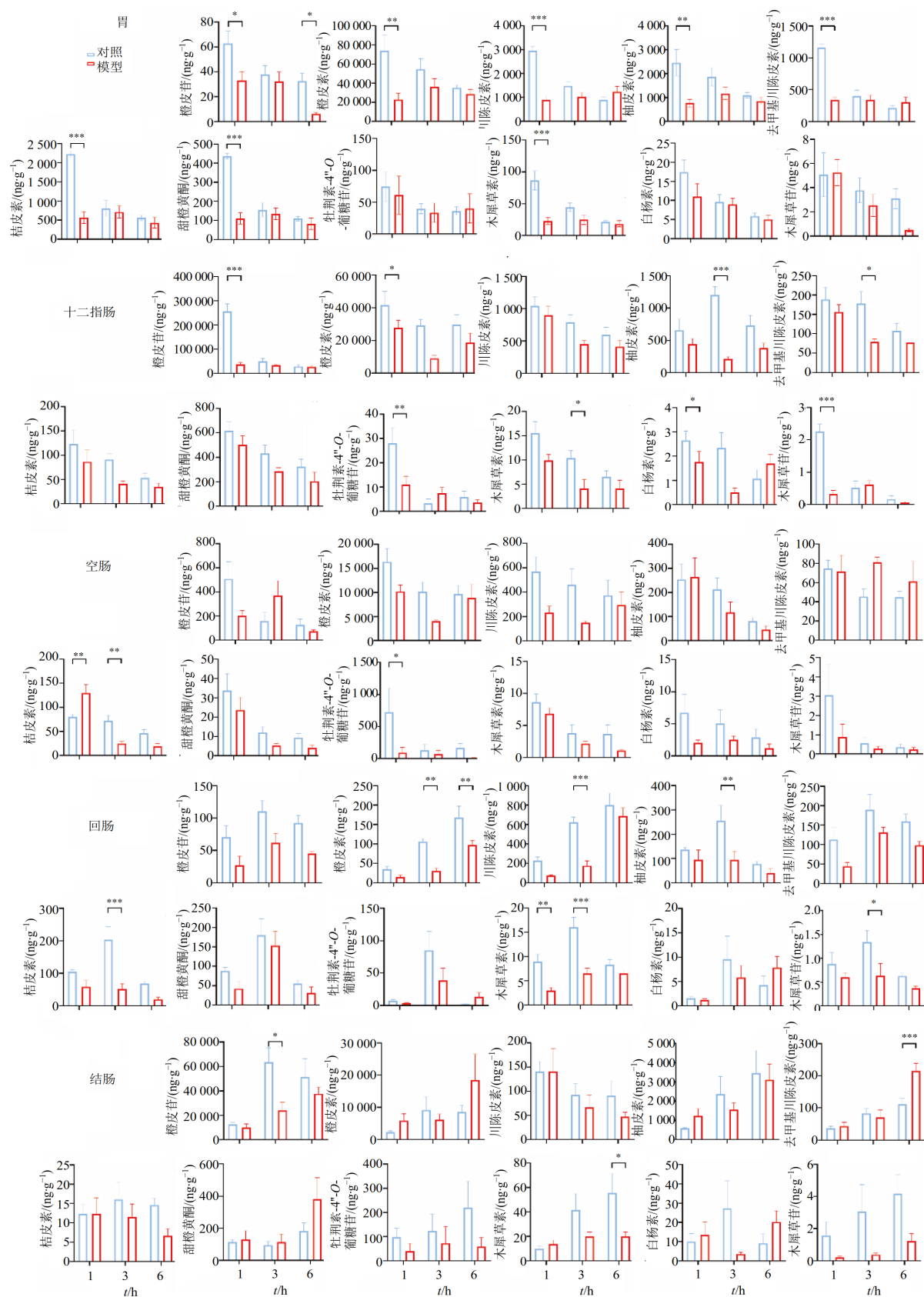


图4 达立通颗粒中主要黄酮类活性成分在大鼠胃肠组织中的分布情况($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Distribution of main flavonoid active compounds in Dalitong granules in gastrointestinal tissues of control and FD rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

且在各组织中达到最高浓度的时间点差异较大。在对照组大鼠胃、十二指肠和空肠组织中,各待测化合物在给药1 h后的浓度较高。但在模型组中,化合物浓度较对照组有所降低,例如柚皮素、川陈皮素和橙皮素等。在回肠和结肠组织中,开始渐渐出现了达峰时间延后的现象,例如去甲基川陈皮素、甜橙黄酮和白杨素等。

另外,各化合物在对照和模型组大鼠不同组织中的分布差异也较大。黄酮类化合物苷元如川陈皮素在组织中的分布迅速且稳定,在给药后1 h内就已经广泛分布于各胃肠组织中,随着胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠的吸收及代谢,其浓度随着时间推移逐渐降低,且对照组和模型组的化合物浓度具有一定差异。黄酮苷如橙皮苷能在胃肠组织中各时间点检出,这可能是黄酮苷的肝肠循环作用的

结果,黄酮苷在部分组织中含量较高且达峰迅速。其中在空肠中浓度最高,其次是胃和其他肠道组织,但在回肠中基本没有分布。

3.2.2 其他类化合物分布差异研究

给药达立通颗粒后,主要非黄酮类活性成分在对照组和FD模型组大鼠体内各胃肠组织中1、3、6 h的浓度见图5。结果表明,7个非黄酮类成分在对照组和FD模型组中浓度差异显著,且在各组织中达到最高浓度的时间差异也较大。对照组大鼠胃和十二指肠组织中,各待测化合物基本在1 h时暴露水平较高。但在模型组中,主要非黄酮类活性成分在各组织中浓度较对照组均有所下降,部分具有显著性差异,例如胃组织中的黄连碱($P < 0.01$)、原阿片碱($P < 0.001$)和伞形花内酯($P < 0.01$)等。在对照组组大鼠胃部组织中,伞形花内酯1 h时浓度最

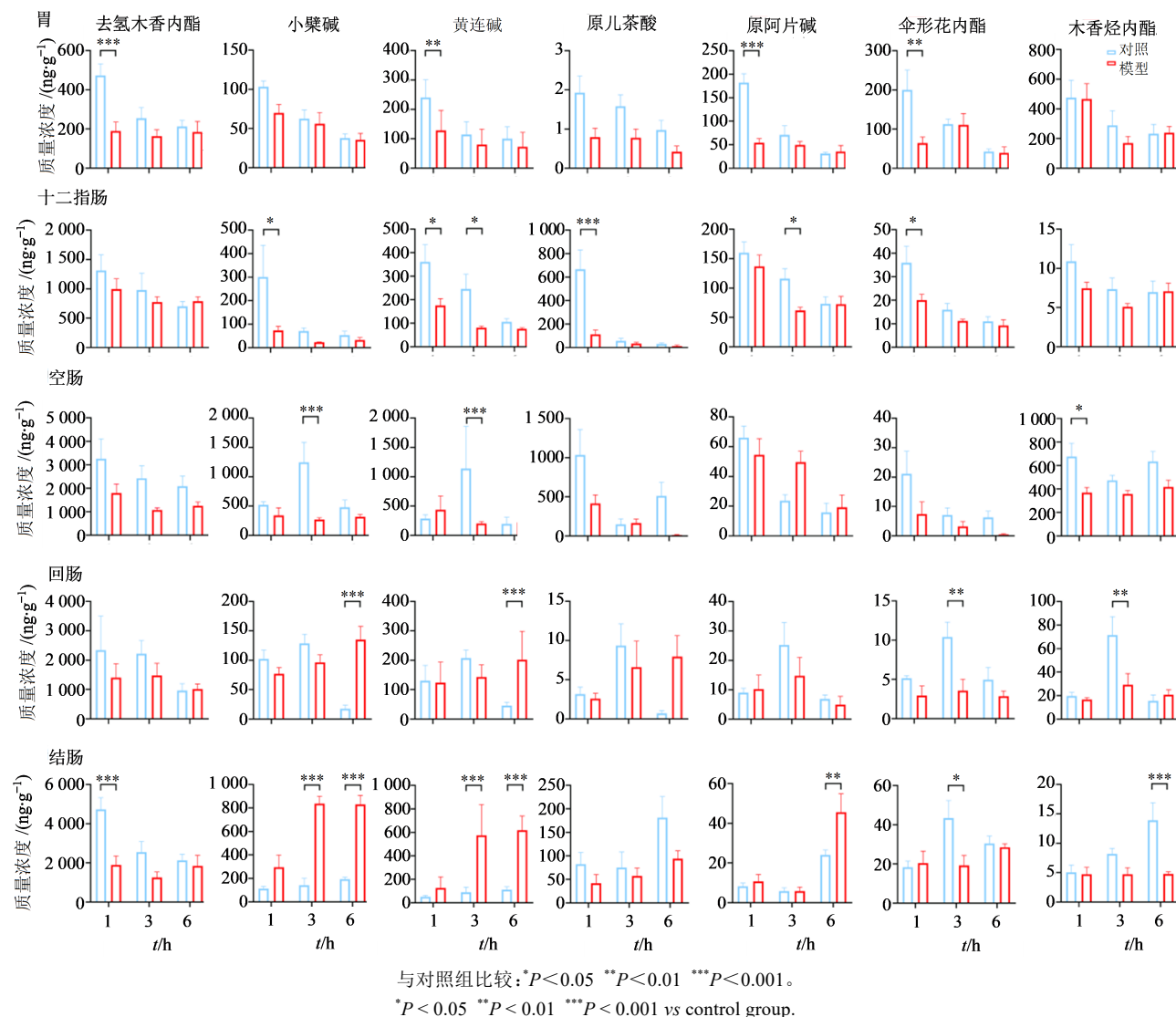


图5 达立通颗粒中主要非黄酮类活性成分在对照和FD大鼠胃肠组织中的分布情况($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 5 Distribution of main non-flavonoids active components in gastrointestinal tissues of control and FD rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

高,而在模型组大鼠胃组织中,伞形花内酯在中3 h时浓度最高。在模型组大鼠的回肠和结肠组织中,部分非黄酮类化合物甚至在6 h时浓度才最高,例如黄连碱、小檗碱、原阿片碱和伞形花内酯等。另外,在大鼠的结肠部位,部分生物碱类化合物如小檗碱和黄连碱,出现模型组浓度显著高于对照组的情况($P<0.001$),推测可能是由于造模后大鼠胃肠动力不足,蠕动缓慢,胃肠功能障碍造成药物吸收代谢发生变化,导致药物到达结肠部位的时间延后、代谢减缓。

值得注意的是,橙皮苷、橙皮素、柚皮素、原儿茶酸、去氢木香内酯、川陈皮素、去甲基川陈皮素、小檗碱和桔皮素在胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠中暴露水平较高,且在对照和模型组中各时间点下的浓度差异较显著,提示这些成分的体内分布受到胃肠道蠕动的影

4 讨论

研究表明,FD作为一种广泛流行的功能性胃肠疾病,发病机制较为复杂,涉及胃肠运动障碍、黏膜完整性受损、肠道微生物紊乱和精神-心理社会因素等。其中,胃肠动力障碍被认为是FD的主要病理基础^[15-16]。《黄帝内经》里说“胃主受纳”,人体的消化吸收由脾胃共同完成。现代研究表明,肠道作为消化系统的一部分,其主要功能包括消化、吸收营养、排泄废物等。因此,胃肠动力障碍会影响机体的消化、吸收和排泄等^[18]。

本实验采用夹尾刺激结合不规律饮食双因素干预方法建立功能性消化不良模型,采用体质量监测、胃排空和肠推进率及病理组织学染色对模型进行评价。模型组大鼠体质量增长缓慢,胃肠运动减慢,胃肠功能障碍,十二指肠肠黏膜的紧密连接被破坏,肠上皮绒毛稀疏,但未出现胃肠组织的器质性病变,符合FD的特征。

中药复方或中成药因化学成分复杂、理化性质不一、有效成分含量差异大等原因,导致在研究其有效成分的体内暴露水平方面存在困难^[19]。近年来,随着高灵敏度和宽动态线性范围质谱仪的普及,使得较为全面描述中药复方或中成药中活性成分的体内暴露情况成为可能。本研究应用UPLC-QTRAP-MS/MS技术结合动物实验,采用MRM扫描模式,分别以氟西汀和双氯芬酸为正、负离子模式下的内标化合物,UPLC-QTRAP-MS/MS法测定对照组和FD模型组大鼠胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠组织中达立通颗粒主要活性成分的浓度。

在此基础上,研究了各化合物随时间和不同胃肠组织的分布差异^[20-21]。

结果显示,达立通颗粒主要活性成分在胃及不同肠段中浓度差异较大,其中黄酮类化合物的浓度最高,其次是为萜类和生物碱类化合物。另外,在胃组织中,FD模型组中各待测化合物的浓度普遍较对照组降低。在十二指肠组织中,各化合物的浓度趋势基本与胃部组织一致,模型组大鼠十二指肠中较为稀疏的上皮绒毛,可能导致对外源性化合物的吸收能力降低,而破损的紧密连接造成肠道重吸收能力的进一步失调。随着药物不断从胃到结肠,各被测化合物在各消化道中的达峰时间逐渐延后。在给药后的6 h的结肠组织中,可检测到部分生物碱类化合物如小檗碱、原阿片碱和黄连碱等,且上述化合物在模型组结肠组织中的浓度要显著高于对照组。上述结果表明,模型组与对照组大鼠相比,胃肠道中药物分布存在较显著差异,可能与FD大鼠胃肠功能出现障碍有关。研究表明FD大鼠的胃肠运动能力相较对照组明显削弱,胃肠功能的变化会影响消化道吸收和代谢能力。此外,FD大鼠十二指肠绒毛和上皮紧密连接不完全可能直接导致吸收能力的降低。FD大鼠相较于正常大鼠,胃肠道对药物吸收的差异可能与此有关^[14,16,18]。

另外,研究过程中发现包括:橙皮苷、橙皮素、柚皮素、原儿茶酸、去氢木香内酯、川陈皮素、去甲基川陈皮素、小檗碱和桔皮素等9个化合物,在胃肠组织中有较高分布,且在对照和模型组各时间点含量差异较大。可作为达立通颗粒给药后在胃肠部位的高暴露化学成分,推测可能也是达立通颗粒改善FD胃肠动力障碍的主要活性成分。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Oustamanolakis P, Tack J. Dyspepsia: Organic versus functional [J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(3): 175-190.
- [2] Black C J, Drossman D A, Talley N J, et al. Functional gastrointestinal disorders: Advances in understanding and management [J]. Lancet, 2020, 396(10263): 1664-1674.
- [3] Wauters L, Talley N J, Walker M M, et al. Novel concepts in the pathophysiology and treatment of functional dyspepsia [J]. Gut, 2020, 69(3): 591-600.
- [4] Su Y, Tao L, Zhang X L, et al. Non-targeted characteristic filter analysis combined with in silico prediction strategies to identify the chemical components and in vivo metabolites of Dalitong Granules by UPLC-Q-TOF/

- MS/MS [J]. J Pharmaceut Biomed, 2023, 222: 115086.
- [5] 任静林, 李红娟. 1998—2018年我国居民慢性病患率趋势与人群差异分析 [J]. 卫生经济研究, 2022, 39(6): 30-33.
- Ren J L, Li H J. Trends and population differences of chronic disease prevalence from 1998 to 2018 [J]. Health Econ Res, 2022, 39(6): 30-33.
- [6] 肖小河, 赵旭, 柏兆方, 等. 中药新安全观及实践 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(10): 2557-2564.
- Xiao X H, Zhao X, Bai Z F, et al. New outlook on safety of traditional Chinese medicine: Concept and practice [J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(10): 2557-2564.
- [7] Schol J, Carbone F, Holvoet L, et al. Postinfectious onset in functional dyspepsia is a risk factor for weight loss [J]. J Gastroenterol, 2022, 57(3): 156-163.
- [8] Xiao Z L, Xu J, Tan J, et al. Zhizhu Kuanzhong, a traditional Chinese medicine, alleviates gastric hypersensitivity and motor dysfunction on a rat model of functional dyspepsia [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 1026660.
- [9] Chen Y, Miao Z W, Sheng X J, et al. Sesquiterpene lactones-rich fraction from *Aucklandia lappa* Decne. alleviates dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis through co-regulating MAPK and Nrf2/Hmox-1 signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 295: 115401.
- [10] 郭晟, 张俊明, 郑国安, 等. 达立通颗粒治疗功能性消化不良作用机理研究 [J]. 中国药物评价, 2018, 35(3): 183-189.
- Guo S, Zhang J M, Zheng G A, et al. Study on the mechanism of dalitong granule in the treatment of functional dyspepsia [J]. Chin J Drug Eval, 2018, 35(3): 183-189.
- [11] 吴依松, 李士伟, 李昊举, 等. 基于UHPLC-MS/MS的钩藤生物碱在大鼠体内的组织分布研究 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 4035-4045.
- Wu Y S, Li S W, Li H J, et al. Tissues distribution of alkaloids from *Uncaria rhynchophylla* in rats by UHPLC-MS/MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(13): 4035-4045.
- [12] 刘伟, 葛广波, 王永丽, 等. 基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术研究清肺排毒汤化学成分及小鼠组织分布 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2035-2045.
- Liu W, Ge G B, Wang Y L, et al. Chemical constituent and tissue distribution study of Qingfei Paidu Decoction in mice using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(8): 2035-2045.
- [13] 郭璐, 钟振东, 韩奕岑, 等. 不同给药方式在大鼠内对利巴韦林的药代动力学和组织分布的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(1): 25-32.
- Guo L, Zhong Z D, Han Y C, et al. Effects of different administration methods on the pharmacokinetics and tissue distribution of ribavirin in rats [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2022, 27(1): 25-32.
- [14] Song J, Wang T, Zhang X, et al. Upregulation of gastric norepinephrine with beta-adrenoceptors and gastric dysmotility in a rat model of functional dyspepsia [J]. Physiol Res, 2020, 69(1): 135-143.
- [15] Liang Q K, Yan Y, Mao L F, et al. Evaluation of a modified rat model for functional dyspepsia [J]. Saudi J Gastroenterol, 2018, 24(4): 228-235.
- [16] Ji S, You Y T, Peng B Z, et al. Multi-omics analysis reveals the metabolic regulators of duodenal low-grade inflammation in a functional dyspepsia model [J]. Front Immunol, 2022, 13: 944591.
- [17] 许树长, 孙会会. 胃肠动力障碍与功能性疾病的诊治进展 [J]. 上海医学, 2017, 40(12): 720-722.
- Xu S C, Sun H H. Development of diagnosis and treatment of gastrointestinal mobility disorders and functional diseases [J]. Shanghai Med J, 2017, 40(12): 720-722.
- [18] 常雨, 张艮霜, 张艺川, 等. 中医药治疗功能性消化不良相关信号通路的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(20): 5397-5403.
- Chang Y, Zhang G S, Zhang Y C, et al. Research progress in signaling pathways related to treatment of functional dyspepsia with traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(20): 5397-5403.
- [19] Lanao J M, Fraile M A. Drug tissue distribution: Study methods and therapeutic implications [J]. Curr Pharm Des, 2005, 11(29): 3829-3845.
- [20] Hu Z W, Wang Z M, Liu Y, et al. Metabolite profile of salidroside in rats by ultraperformance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-linear ion trap mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(41): 8999-9005.
- [21] Sun Y, Liu L Y, Peng Y, et al. Metabolites characterization of timosaponin AIII *in vivo* and *in vitro* by using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2015, 997: 236-243.