

当归多成分“质代关联”研究

郭怡祯, 王晶娟*, 刘 洋, 赵保胜, 吴浩忠, 鲁利娜, 王 月, 刘傲雪

北京中医药大学, 北京 100102

摘 要: **目的** 研究当归水提物多成分体内代谢动态变化过程, 筛选当归的质控成分, 寻找中药质量评价新方法。**方法** 采用肠系膜静脉和腹主动脉取血的方法, 运用 HPLC 对比分析当归经肠代谢和肝代谢的化学成分特征谱, 推断当归水提物中多成分的代谢变化过程。**结果** 分析的 15 种成分在消化液中均基本稳定, 其中有 4 种成分可能被肠道代谢, 7 种成分被肝脏代谢。并发现 1 种新成分是肝代谢产物, 7 种新成分是肠代谢产物, 但其中 5 种肠代谢产物经肝脏又被代谢转化, 未能吸收入血。最终确定了当归水提物中的 4 种原型成分和 3 种肠肝代谢产物能吸收入血。**结论** 综合分析当归各成分的代谢轮廓, 初步筛选出包括洋川芎内酯 I 在内的 4 种原型成分作为质控成分, 建立了“质代关联”的中药质量评价方法。

关键词: 当归; 多成分分析; 肠代谢; 肝代谢; 质代关联

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)15-2701-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.018

“Correlation in quality and metabolism” of multicomponents in *Angelicae Sinensis Radix*

GUO Yi-zhen, WANG Jing-juan, LIU Yang, ZHAO Bao-sheng, WU Hao-zhong, LU Li-na, WANG Yue, LIU Ao-xue
Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: **Objective** To study the dynamic processes of *in vivo* metabolism of multicomponent in the decoction of *Angelicae Sinensis Radix* (ASR), select the quality control components, look for a new quality evaluation method for Chinese materia medica (CMM). **Methods** The blood was taken from mesenteric vein and abdominal aorta. By analyzing HPLC fingerprints of intestinal metabolism and liver metabolism, we could infer multicomponent changes in the metabolic process of water extract from ASR. **Results** Totally 15 components were basically stable in the digestive juice, four of them may be metabolized by intestine, while seven of them were metabolized by liver. And we found one new component was the metabolite of liver, seven new components were the metabolites of intestine, but five of them were metabolized by liver and could not be absorbed into blood. Finally, we identified that four prototype components of water extract from ASR and three metabolites could be absorbed into blood. **Conclusion** Based on the multicomponent metabolic profiling of ASR, we initially select the four prototype components including senkyunolide I as the quality control component, and we finally establish a quality evaluation method for “correlation in quality and metabolism”.

Key words: *Angelicae Sinensis Radix*; multicomponent analysis; intestinal metabolism; liver metabolism; correlation in quality and metabolism

当归 *Angelicae Sinensis Radix* 是伞形科 (Umbelliferae) 植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diel. 的干燥根, 为著名常用中药, 药用历史悠久, 始载于《神农本草经》谓之“当归味温, 主呕逆上气”, 被列为中品^[1], 是养血活血的要药。自古以来为医家常用, 素有“十方九归”之称。其在方剂中的应用频度甚高, 如在清著《汤头歌诀》中就有 53

种, 在日本《普通汉方》中有 56 种。

近年来, 医药市场出现当归的掺假、掺伪现象, 如一些当归属植物的根在干燥或切片后冒充当归使用^[2], 严重影响当归质量, 并且《中国药典》2015 年版中仅以阿魏酸作为单指标成分来评价当归质量, 这种借鉴化学药品的质量控制模式, 目前来说是切实可行、操作性强、相对有效的, 但也存在很

收稿日期: 2016-01-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81303217, 81374027, 81274042); 北京中医药大学校级课题 (2015-JYB-XS070)

作者简介: 郭怡祯 (1989—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药质量控制方法。Tel: 18810958380 E-mail: yizhenguo510@163.com

*通信作者 王晶娟 (1977—), 女, 硕士研究生导师, 副教授, 研究方向为中药质量评价方法和组分药物开发研究。

Tel: (010)84738624 E-mail: jingjuanw@163.com

大的弊端。这实际上是将中药简单化,被监测的指标成分并未被证明就是其真正起疗效的药效成分。

中药质量评价的最终目的是保证药品的临床疗效,而只有能被机体吸收、能分布到作用靶点、能参与机体代谢的成分才是真正起到治疗作用的成分,也是需要控制的成分^[3]。对于中药而言,其疗效是中药中多个功能组分整体表现,是多成分协同作用的结果。因此,以疗效为核心,将质量评价与多成分体内代谢相结合,建立“质代关联”的中药质量评价方法,是中药质量评价研究的新思路^[4-5]。

中药传统用药方式产生疗效的过程是中药饮片中的化学成分水煎煮后进入提取液,口服后通过胃肠道代谢和吸收进入肝脏,再通过肝脏代谢后进入血液循环系统中运载到全身的相关组织产生药理作用。本研究以当归水提物为研究对象,采用大鼠体内实验,借助高效液相色谱仪,对当归多成分吸收代谢的全过程开展系统的研究。通过比较不同阶段可检出成分谱中代表化学成分色谱峰信息,揭示当归药效物质基础的多成分动态变化过程,为当归药材质控成分的筛选提供合理的实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠,6 周龄,体质量(300±40) g,北京斯贝福实验动物科技有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2015-0004。饲养于符合国家标准的屏障环境中,室温 22~24 ℃,相对湿度 60%。实验前适应性喂养大鼠 1 周以上,自由饮水和进食。

1.2 药材与试剂

当归饮片(购于北京同仁堂药店)经北京中医药大学王晶娟副教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根;甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);纯净水;其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器

高效液相色谱仪(Agilent 1260,安捷伦科技有限公司);1-15 PK 离心机(德国西格玛公司);BT-100-1F 蠕动泵(保定兰格恒流泵有限公司);RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);HH-2 恒温水浴锅(江苏省金坛市晨阳电子仪器厂);FE20 pH 酸度计(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);制氧机(氧立得,北京市皓月楼工贸有限责任公司);CM-12 水浴氮吹仪(北京成萌伟业科技有限公司);QL-901 涡旋振荡器(海门市其林贝尔

仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 Krebs-Ringer's (K-R) 营养液配制 称取 7.80 g NaCl、0.35 g KCl、0.37 g CaCl₂、1.37 g NaHCO₃、0.32 g NaH₂PO₄、0.02 g MgCl₂、葡萄糖 1.40 g,加蒸馏水定容至 1 000 mL,调节 pH 值为 7.39~7.41,放置备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 称取当归饮片 50 g,置具有冷凝回流装置的圆底烧瓶中,用 10 倍量的去离子水回流提取 3 次,每次 0.5 h,滤过,合并 3 次滤液并悬蒸浓缩,水浴至近半干,用配制好的 K-R 营养液定容至 50 mL,放置,待用。

2.1.3 人工胃液的配制^[6] 取稀盐酸 16.4 mL,加水约 800 mL,与胃蛋白酶 10 g,摇匀后,加水稀释成 1 000 mL,即得。

2.1.4 人工肠液的配制^[6] 取磷酸二氢钾 6.8 g,加水 500 mL 使溶解,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.8;另取胰酶 10 g,加水适量使溶解,将两液混合后,加水稀释至 1 000 mL,即得。

2.2 色谱条件

采用色谱柱为依利特 Hypersil C₁₈ ODS-2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为 1%甲酸水溶液(A)-甲醇(B);梯度洗脱:0~5 min, 5%~10% B;5~10 min, 10% B;10~25 min, 10%~35% B;25~42 min, 35%~65% B;体积流量 1 mL/min;柱温 30 ℃,双波长紫外检测器,检测波长 270 nm,进样量 10 μL。

2.3 多成分代谢

2.3.1 胃稳定性研究 取 50 mL 人工胃液,37 ℃ 预温孵 5 min 后,加入 1 mL 供试品溶液,在 37 ℃ 水浴情况下,不断轻微振摇使其混合均匀,人工胃液中温孵 6 h,每隔 1.5 h,即分别于 0、1.5、3.0、4.5、6.0 h 时间点取样 6 mL,立即用 0.1 mol/L 的 NaOH 调 pH 值 6~7,从而终止反应并用去离子水定容至 10 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液进样分析。

2.3.2 肠稳定性研究 取 50 mL 人工肠液,37 ℃ 预温孵 5 min 后,加入 1 mL 供试品溶液,在 37 ℃ 水浴情况下,不断轻微振摇使其混合均匀,人工肠液中温孵 7.5 h,每隔 1.5 h,即分别于 0、1.5、3.0、4.5、6.0、7.5 h 时间点取样 6 mL,并立即用去离子水定容至 10 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜滤过,

取续滤液进样分析。

2.3.3 肠代谢研究 5 只 SD 大鼠禁食 12 h, 自由饮水, 分为 2 组, 4 只为供血组, 1 只为实验组。5 只大鼠全部 ip 水合氯醛麻醉, 供血组腹主动脉取血, 血液放于肝素化离心管并置于 37 ℃ 水浴锅中保温, 用于补充实验组大鼠手术过程中损失的血液。实验组大鼠颈静脉插管, 管的另一端通过蠕动泵连接到从供血组取出的血液中。肠系膜静脉插管采血, 沿其腹中线打开腹腔选取结肠段 8 cm 作为供试肠段, 在肠段首末端事先系上丝线, 用注射器将供试品溶液缓慢注入肠腔, 当溶液到达肠段末端, 用丝线结扎。用 37 ℃ 生理盐水湿润过的纱布盖住裸露的肠段, 保温板加热。开启蠕动泵给实验鼠供血, 同时结扎门静脉, 肠系膜静脉开始收集血液, 实验持续 1 h, 收集的血液分 2 个时间段 (0~30 min 和 30~60 min), 分别放入肝素化的离心管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液加入 3 倍量甲醇, 涡旋 2 min, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 40 ℃ 氮吹浓缩至干, 精密加 1 mL 甲醇溶解。过 0.45 μm 微孔滤膜, 进行液相分析。

2.3.4 肝代谢研究 1 只 SD 大鼠, 禁食 12 h 不禁水, 待麻醉后打开腹腔, 同样选取结肠段 8 cm 系上丝线, 将供试品溶液封闭在结肠中, 不需要供血, 不结扎门静脉, 1 h 后腹主动脉采血约 10 mL, 样品处理同肠代谢实验。

3 结果

3.1 当归供试品溶液的 HPLC 图谱

根据确定的色谱条件, 分别对当归原水提物和溶解在 K-R 营养液中的供试品溶液进行液相分析, 经对比发现 K-R 营养液不会对原水提物产生干扰峰, 由于后续均是用更符合肠道环境的当归供试品溶液进行的实验研究, 所以应首先确定当归供试品溶液的指纹图谱, 如图 1 所示, 并标出有特征性的 15 个成分峰, 其中峰 C10、C12、C13 经对照品指认分别为阿魏酸、洋川芎内酯 I 和洋川芎内酯 H。

3.2 胃肠道稳定性

由于胃肠道的酸碱物理环境及消化酶均有可能改变中药成分的结构, 因此在进行肝代谢、肠代谢研究之前, 应首先考察当归水提物口服经过消化道的多成分变化情况。以未温孵样品溶液 (即 0 h) 色谱峰峰面积 (A_0) 为参照, 与温孵不同时间后的样品溶液色谱峰的峰面积 (A_i) 作比较, 计算出不同时间点各成分的变化率 (f , $f = |A_i - A_0| / A_0$)。

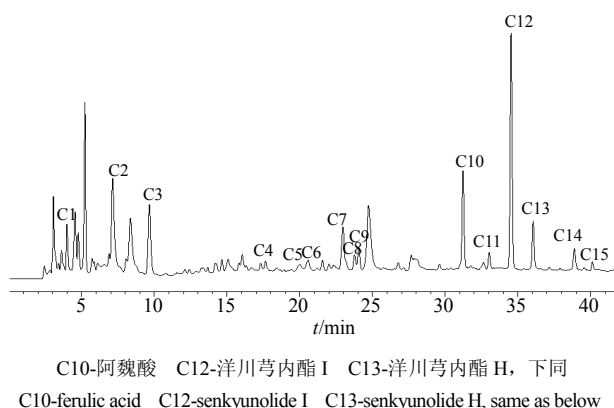


图 1 当归供试品溶液的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of test solution of ASR

人工胃液和人工肠液中各成分变化率的最大值 ($f_{\max}$) 及对应的时间见表 1。由表 1 可知, 成分 C1 和 C5 在人工胃液和人工肠液中的 $f_{\max}$ 均大于 10%, 成分 C15 在人工肠液中的 $f_{\max} > 10\%$, 但其对应时间均在 4.5 h 之后。而药物在胃液中的滞留时间一般不超过 2 h, 肠道中滞留时间一般不超过 4 h^[7]。所以认为当归水提物中这 15 种成分在胃肠道中较稳定。

表 1 当归水提物在人工胃液中温孵 6 h 和在人工肠液中温孵 7.5 h 各色谱峰峰面积 $f_{\max}$ 及相应时间

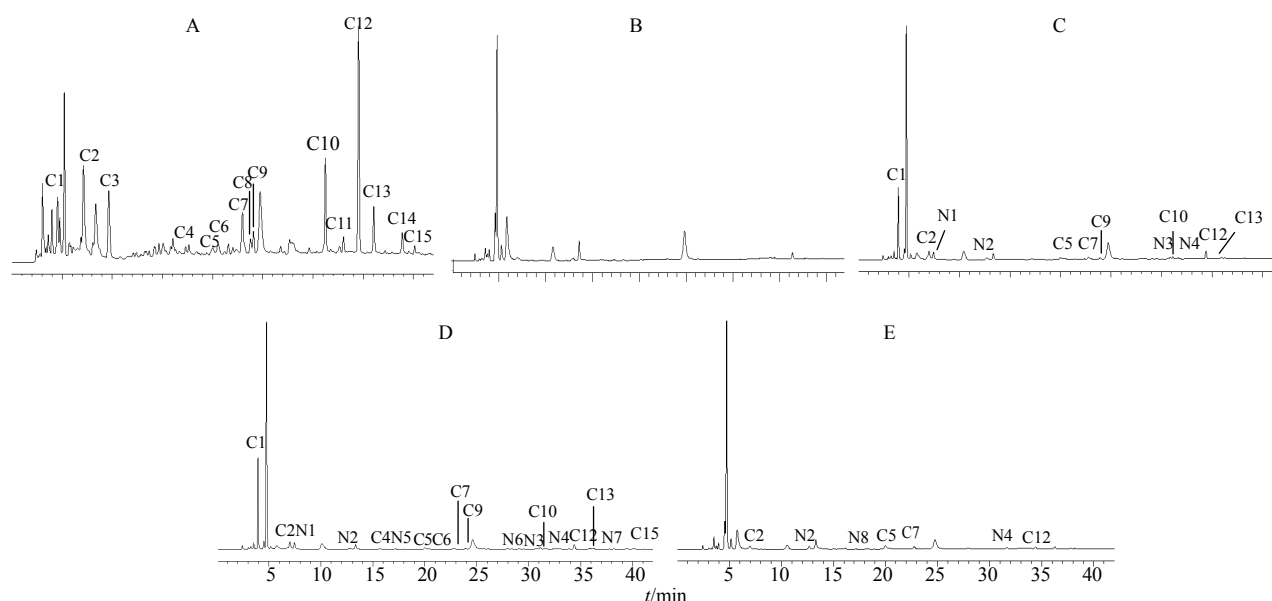
Table 1 Maximum change rate and corresponding time of multicomponents in water extract from ASR decoction incubated for 6 h in artificial gastric juice and 7.5 h in artificial intestinal juice

色谱峰 编号	人工胃液		人工肠液	
	$f_{\max}/\%$	t/h	$f_{\max}/\%$	t/h
C1	11.07	4.5	13.12	7.5
C2	6.72	6.0	8.38	7.5
C3	8.02	4.5	8.40	6.0
C4	9.05	6.0	9.25	6.0
C5	12.84	6.0	15.32	7.5
C6	8.54	6.0	7.31	7.5
C7	2.49	4.5	3.36	4.5
C8	5.05	6.0	5.97	7.5
C9	3.19	3.0	3.24	7.5
C10	5.01	6.0	3.01	7.5
C11	6.84	6.0	7.90	7.5
C12	3.60	6.0	2.03	7.5
C13	4.63	6.0	5.57	7.5
C14	1.61	6.0	6.76	7.5
C15	6.24	6.0	13.06	6.0

3.3 肠代谢

肠道在药物的全身代谢中具有重要的地位,其中肠道菌代谢是影响药物吸收的最为重要的过程,中药成分在肠道菌的作用下会发生水解、氧化、还原等生物转化^[8]。由于菌群在整个肠道内的分布是不均匀的,研究发现结肠是肠道菌的主要存在部位^[9],所以本实验选取结肠段作为受试肠

段进行肠代谢研究。从图 2 中可以看出,当归水提取物中的大部分成分可通过肠道吸收入血,并在肠道菌和肠壁酶的作用下代谢生成了多种新成分。为使得实验结果具有可比性,以 C12 色谱峰(即洋川芎内酯 I)作为参比峰,计算其他色谱峰与 C12 峰(洋川芎内酯 I)的相对峰面积,来说明各成分的代谢情况。结果见表 2。



C 代表原型成分, N 代表新成分, 下同

C represents prototype components, N represents the new components, same as below

图 2 当归供试品溶液 (A)、空白血浆 (B)、肠代谢物 (0~30 min, C; 30~60 min, D) 和肝代谢物 (E) 的 HPLC 图谱
Fig. 2 HPLC of test solution of ASR (A), blank plasma (B), intestinal metabolite (0~30 min, C and 30~60 min, D) and liver metabolite (E)

从图 2 和表 2 中可以看出,成分 C3、C8、C11、C14 未在肠系膜静脉血中检测到,可能是由于在肠道发生了代谢,或是未被肠道吸收入血。成分 C1 的相对峰面积在肠代谢物血样中剧烈升高,这提示成分 C1 的渗透性可能比较好或同时也是某些成分代谢产物。通过肠代谢物 1 (0~30 min) 和肠代谢物 2 (30~60 min) 的对比可知,肠代谢物 2 中能检测到的成分明显增多,成分 C4、C6、C15 在肠代谢 1 中未检测到,而在肠代谢物 2 中均能检测到,说明药物在肠道吸收入血过程比较缓慢。并且肠代谢物 2 中除成分 C6 外,大部分成分的相对峰面积均有不同程度地增加,说明随着时间的延长,绝大多数成分的血药浓度有所升高。从结果还可以看出,药物通过肠道代谢共生成了 7 种新成分,这些成分在当归水提取物和空白血浆中均未发现。其中前 4 种成分是肠代谢物 1 和肠代谢物 2 中共有成分,

新成分 N5、N6、N7 只在肠代谢物 2 中能检测到,是给药 30 min 后经肠代谢生成的新成分,说明其代谢过程比较缓慢。

3.4 肝代谢

肝脏是外源性物质代谢最主要的器官^[10]。口服药物在进入全身血液循环前都会经历肝代谢,其内含有丰富的 I 相代谢和 II 相代谢酶能使部分或全部成分发生生物转化,生成新的物质。

从图 2 和表 2 中可以看出,成分 C3、C8、C11、C14 也未能在肝代谢血样中检测到。成分 C1、C4、C6、C9、C10、C13、C15 在肠代谢物血样中能检测到,而在肝代谢血样中消失,并且经肠代谢生成的新成分 N1、N3、N5、N6、N7 再经肝脏后也未能检测到,说明这些成分在肝脏中发生了代谢。新成分 N8 只有在肝代谢血样中能检测到,说明是经过肝代谢新生成的产物。肝代谢血样中各成分的相

表 2 当归供试品、肠代谢物和肝代谢物中各色谱峰的相对峰面积

Table 2 Each relative peak area of test solution of ASR, intestinal metabolites, and liver metabolite

色谱峰 编号	相对峰面积/%			
	当归供 试品	肠代谢物 1 (0~30 min)	肠代谢物 2 (30~60 min)	肝代 谢物
C1	15.09	522.95	988.53	—
C2	58.33	164.62	189.24	264.74
C3	41.75	—	—	—
C4	3.41	—	12.59	—
C5	4.40	47.90	57.79	281.10
C6	6.46	—	18.41	—
C7	27.61	34.17	37.69	171.64
C8	7.08	—	—	—
C9	10.49	23.63	21.68	—
C10	43.68	29.43	39.50	—
C11	6.68	—	—	—
C12	100.00	100.00	100.00	100.00
C13	21.31	27.81	29.95	—
C14	11.60	—	—	—
C15	3.11	—	13.63	—
N1	—	99.71	147.96	—
N2	—	41.67	39.09	277.15
N3	—	23.65	5.83	—
N4	—	21.82	24.18	101.56
N5	—	—	7.62	—
N6	—	—	8.45	—
N7	—	—	13.70	—
N8	—	—	—	58.97

“—”代表未检测到

“—” represents undetected

对峰面积较肠道代谢血样中均有明显增大,说明这些成分可能也是肝代谢的产物。以上实验结果表明肝脏中拥有更丰富的代谢酶和更强的代谢能力。

综上可知,当归水提物中选出的 15 种特征成分中,只有成分 C2、C5、C7、C12 这 4 种成分能以原型经过肠道和肝脏吸收进入全身血液循环。同时在血液中检测出 3 种经过肠肝代谢生成的新成分。通过与对照品比对得知,洋川芎内酯 I (即成分 C12) 能以原型形式吸收入血,阿魏酸 (即成分 C10) 和洋川芎内酯 H (即成分 C13) 均被肝脏代谢,不能以原型吸收入血。

3.5 代谢轮廓总结

药物进入体循环前,要经过一个连续的吸收代谢过程,将胃肠液稳定性、肠代谢和肝代谢过程串联起来,重点研究 4 种以原型入血成分 (C2、C5、C7、C12) 的代谢变化过程。为了保证实验结果的可比性,利用公式进行归一化处理。结果见图 3。

相对含量=样品溶液相对峰面积/当归水提物相对峰面积
样品溶液相对峰面积为供试品溶液经过不同的代谢过程后血样中各成分相对于洋川芎内酯 I 内标成分的相对峰面积,当归水提物相对峰面积为当归水提物中各成分相对于洋川芎内酯 I 内标成分的相对峰面积

表 3 综合分析了 15 个原型成分和 8 个代谢产物的可能代谢位点,可见当归在消化液中基本稳定,化学成分代谢主要发生在肠道和肝脏,尤其在肝脏中会经历严重的代谢反应。

4 讨论

本实验以临床使用最广泛的水煎汤剂为研究

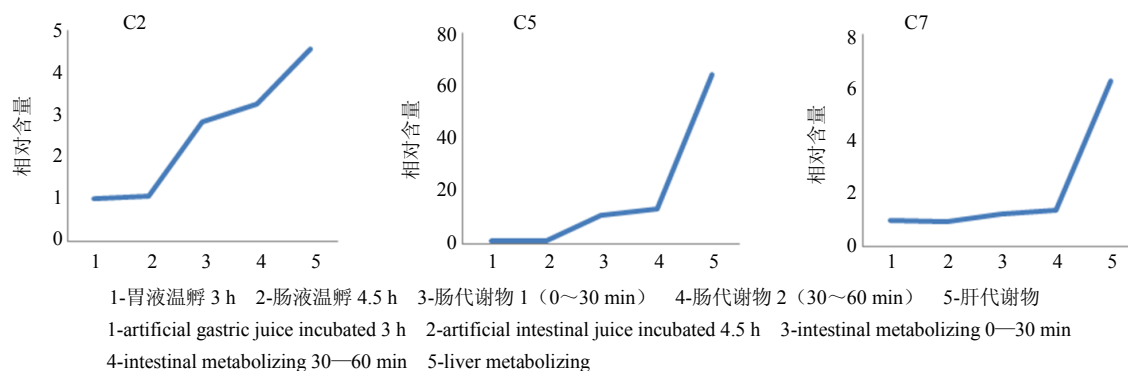


图 3 原型入血的 3 个成分沿消化道系统相对含量的变化情况

Fig. 3 Changes of relative content of three prototype components into blood in digestive tract system

对象,在最大量地掌握当归可检测成分的前提下,选取了当归水提物中的 15 种特征成分,且这些成分在人工胃液和人工肠液中均相对稳定。然后通过

比较不同时间段肠系膜静脉血中成分、腹主动脉血中成分的 HPLC 化学成分特征谱,系统分析当归水提物多成分的代谢情况。

表 3 当归水提取物中各成分及代谢产物的可能代谢位点

Table 3 Possible metabolic sites of each component of water extract from ASR and its metabolite

色谱峰编号	代谢位点			色谱峰编号	代谢位点		
	消化液	肠道	肝脏		消化液	肠道	肝脏
C1	Y	N	Y	C13	N	N	Y
C2	N	N	N	C14	N	Y	N
C3	N	Y	N	C15	Y	N	Y
C4	N	N	Y	N1	N	Y	Y
C5	Y	N	N	N2	N	Y	N
C6	N	N	Y	N3	N	Y	Y
C7	N	N	N	N4	N	Y	N
C8	N	Y	N	N5	N	Y	Y
C9	N	N	Y	N6	N	Y	Y
C10	N	N	Y	N7	N	Y	Y
C11	N	Y	N	N8	N	N	Y
C12	N	N	N				

N 代表不是代谢位点; Y 代表是代谢位点

N represents not a metabolic site; Y represents a metabolic site

研究结果显示,在选定的 15 种成分中有 4 种成分可能被肠代谢,未能吸收入血,同时经肠代谢生成 7 种新成分,并且各成分在不同时间段的代谢程度不同,绝大多数成分在 30 min 以后的代谢程度明显增强,从而影响血药浓度。肝脏是最主要的代谢器官,大部分成分在肝脏中会发生比较严重的代谢反应。有 7 种原型成分和 5 种新成分均被肝代谢,1 种新成分为肝代谢产物。其中阿魏酸也在肝脏中被代谢转化,但是这些未被吸收入血的成分是否能通过生成代谢产物产生药效,是否应将其作为质控成分有待于进一步研究。当归水提取物成分在经历了复杂的吸收代谢后进入体循环的成分已与最初的成分差异较大。水提取物中只有 4 种成分以原型吸收入血,其中一种成分被指认为洋川芎内酯 I,其他成分的指认还需结合 MS 做进一步研究,这 4 种以原型被吸收入血的成分可以作为当归的质量控制成分。同时在腹主动脉血中还检测到 3 种新成分,其转化的原型成分有待于进一步研究。

本研究采用封闭肠循环法并行血液灌流技术探讨中药多成分体内动态代谢情况^[11-12],同时采用化学成分指纹图谱技术全程检测对比分析多成分代谢过程,形象地反映出多成分体内吸收代谢轮廓,整个研究过程始终以体现药效为核心,将多成分药物代谢学术思想与中药鉴定学体系结合应用,开创一种流程化“质代关联”的方法学路线。该研究最终筛选出能吸收入血产生药效的质控成分,并阐明了当归药效物质基础的变化规律。

参考文献

- [1] 陈江弘,杨崇仁. 当归属植物的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 359-365.
- [2] 张春,王晓丽,朱桦. 中药当归及其混伪品的序列分析与鉴别 [J]. 四川农业大学学报, 2013, 29(2): 218.
- [3] Wang L, Wang Z J, Wo S, *et al.* A bio-activity guided in vitro pharmacokinetic method to improve the quality control of Chinese medicines, application to SiWu Tang [J]. *Int J Pharm*, 2011, 406(1/2): 99-105.
- [4] 王晶娟,刘洋,赵保胜,等. 中药“质效代关联”研究方法 with 理论的建立 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1507-1510.
- [5] 王晶娟,刘洋,赵保胜,等. 质效代关联理论在道地药材质量研究中的应用分析 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 157-162.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [7] 孙进. 口服药物吸收与转运 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [8] 杨秀伟,美荣,服部征雄,等. 中药成分代谢分析 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.
- [9] Guarner F, Malagelada J R. Gut flora in health and disease [J]. *Lancet*, 2003, 361(9356): 512-519.
- [10] Thummel K E, Kunze K L, Shen D D. Enzyme-catalyzed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 27(2): 99-127.
- [11] Masaoka Y, Tanaka Y, Kataoka M, *et al.* Site of drug absorption after oral administration: Assessment of membrane permeability and luminal concentration of drugs in each segment of gastrointestinal tract [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 29(3): 240-250.
- [12] 刘洋,潘艳丽,王晶娟,等. 多成分药物代谢理论及分析方法分析 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1663-1667.