

丹参酮类组分自乳化释药系统的肠吸收特征研究

柯秀梅², 刘频健², 余文敏², 张传辉³, 钱 隽², 杨荣平^{1*}, 殷嫦嫦²

1. 西南大学, 重庆 400065

2. 九江学院基础医学院, 九江市转化医学重点实验室, 江西 九江 332000

3. 重庆市中药研究院 重庆市中药资源重点实验室, 重庆 400065

摘要: 目的 探讨丹参酮脂溶性成分自乳化释药系统(TC-SEDDS)的肠吸收特征。方法 采用大鼠在体单向肠灌流实验, 以隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分的吸收[吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})]为指标, 研究其在十二指肠、空肠、回肠和结肠不同肠段的吸收情况; 并考察不同药物质量浓度、P-糖蛋白(P-gp)抑制剂盐酸维拉帕米、多药耐药蛋白(MRP2)抑制剂丙磺舒和能量抑制剂 2,4-二硝基苯酚对 3 个成分肠吸收的影响。结果 隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 在小肠全肠段均有吸收, 且小肠上段(十二指肠)的吸收最佳; 隐丹参酮和丹参酮 I 的吸收在实验质量浓度范围内(1.05~4.19 mg/L 和 1.22~5.56 mg/L)具有浓度依赖性, 丹参酮 II_A 的吸收不受质量浓度(2.43~11.126 mg/L)影响; 盐酸维拉帕米对隐丹参酮和丹参酮 I 的吸收无明显影响, 却显著提高了丹参酮 II_A 的吸收; 丙磺舒显著增加了隐丹参酮和丹参酮 I 的吸收, 对丹参酮 II_A 的影响不显著; 2,4-二硝基苯酚均能显著降低 3 个成分的吸收。结论 隐丹参酮和丹参酮 I 可能是 MRP2 的底物, 不是 P-gp 底物。丹参酮 II_A 可能是 P-gp 底物, 不是 MRP2 底物。3 个成分的吸收均有能量的参与。隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的吸收可能均有主动吸收过程。

关键词: 丹参酮; 多组分; 自乳化释药系统; 在体单向肠灌流; 肠吸收; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 丹参酮 II_A

中图分类号: R283.6.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)13-2697-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.13.017

Intestinal absorption characteristic of tanshinone components SEDDS using one-way intestinal perfusion *in situ*

KE Xiu-mei², LIU Pin-jian², YU Wen-min², ZHANG Chuan-hui³, QIAN Jun², YANG Rong-ping¹, YIN Chang-chang²

1. Southwest University, Chongqing 400065, China

2. Basic Medical College of Jiujiang University, Key Laboratory of translational medicine, Jiujiang 332000, China

3. Key Laboratory of Chongqing TCM resources, Chongqing academy of Chinese Traditional Medical, Chongqing 400065, China

Abstract: Objective To explore the intestinal absorption characteristics of tanshinone components self emulsifying drug delivery system (SEDDS). **Methods** *In situ* single-pass perfusion method was used to investigate the absorption characteristics of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone IIA in rats. The absorption parameters (K_a , P_{app}) of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A were used as indicators to study their optimum absorption site among duodenum, jejunum, ileum, and colon. The effects of verapamil hydrochloride (P-glycoprotein inhibitor, P-gp inhibitor), probenecid (multi-drug resistant protein MRP2), and 2,4-dinitrophenol (energy inhibitor) on the absorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A were also studied, as well as the effects of their different concentration. **Results** Cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A could be absorbed at all four intestinal segments, and the optimum absorption site was the upper segment of small intestine. The absorption of cryptotanshinone and tanshinone I were concentration-dependent at experimental concentration levels (1.05—4.19 mg/L and 1.22—5.56 mg/L), while tanshinone II_A was not affected obviously by its concentrations (2.43—11.12 mg/L). Verapamil hydrochloride had no significant influence on the absorption of cryptotanshinone or tanshinone I, while the absorption of tanshinone II_A was improved remarkably.

收稿日期: 2016-10-20

基金项目: 九江学院课题(2015LGYB13); 重庆市自然科学基金项目(cstc2012jjA1415); 江西省教育厅课题(20173020)

作者简介: 柯秀梅(1987—), 女, 硕士, 初级实验师, 研究方向为中药新剂型与新技术、药物吸收机制。

Tel: 18897928681 E-mail: 458624665@qq.com

*通信作者 杨荣平(1975—), 女, 博士, 硕士生导师, 主要从事中药炮制和新制剂、新剂型研究工作。

Tel: (023)89029068 Fax: (023)89029068 E-mail: 271981966@qq.com

Probenecid increased the absorption of cryptonshinone and tanshinone I apparently, while had no obvious effect on that of tanshinone II_A. 2,4-Dinitrophenol could decrease the absorption of cryptonshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A apparently. **Conclusion** Cryptonshinone and tanshinone I are supposed to be the substrate of MRP2 instead of P-gp. Tanshinone II_A is supposed to be the substrate of P-gp, instead of MRP2. The energy participated in the absorption of cryptonshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A. Active absorption maybe also involved in the absorption of cryptonshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A.

Key words: tanshinone; multicomponent; self emulsifying drug delivery system; single-pass intestinal perfusion; intestinal absorption; cryptonshinone; tanshinone I; tanshinone II_A

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 始载于《神农本草经》，列为上品，为临床最常用中药之一，其活性成分主要分为脂溶性成分和水溶性成分 2 大类。其脂溶性成分主要有隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 和丹参酮 II_B 等^[1]，具有抗肿瘤、抗氧化、保护心血管、抗菌、抗炎等^[2-4]广泛的药理作用。然而，丹参脂溶性成分制剂的口服吸收差，生物利用度低^[5]。实验研究发现溶出过程是其口服吸收的主要限速步骤^[6]。本课题组采用自乳化释药系统 (SEDDS) 实现了对隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 3 个丹参酮类成分的同时增溶，且研究表明其体外溶出度极高。然而药物的体外溶出行为并不能完全预测其体内吸收情况。基于此，本研究进一步探讨丹参酮脂溶性成分 SEDDS (tanshinone components SEDDS, TC-SEDDS) 的大鼠肠吸收机制，旨在为制剂的处方设计提供药剂学理论依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪，Waters 2996 DAD 检测器，Waters Empower 工作站；电子天平（十万分之一，万分之一，赛多利斯公司）；SK-1 快速混匀器（金坛市城东新瑞仪器厂）；DG 系列卡片式蠕动泵（保定雷弗流体科技有限公司）。

1.2 试药与试剂

隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 对照品（南京泽朗科技有限公司，批号和质量分数分别为 FY 11830306、98.4%，FY 11830403、98.9%，FY 11830501、99.3%）；丹参酮原料药（南京泽朗科技有限公司，批号 120102，其中含隐丹参酮 19.85%、丹参酮 I 14.36% 和丹参酮 II_A 65.79%）；乌拉坦（国药集团化学试剂有限公司）；盐酸维拉帕米（大连美仑生物技术有限公司，批号 20121228）；丙磺舒（大连美仑生物技术有限公司，批号 2012001）；2,4-二硝基苯酚（成都麦克西化学试剂有限公司，批号 130416002）；油酸（国药集团化学试剂有限公司）；

聚山梨酯-20（成都科龙化工试剂厂）；二乙二醇单乙基醚 [transcutol P，嘉法师（上海）贸易有限公司友情提供]；甲醇为色谱纯，其余均为分析纯。

1.3 动物

7 周龄 SPF 级 SD 大鼠 12 只，雌雄各半，体重 200~250 g，由重庆市中药研究院实验动物中心提供，合格证号 SCXK（渝）2012-0007。

2 方法

2.1 丹参酮类成分 HPLC 分析

采用《中国药典》2015 年版^[7]方法测定隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A，HPLC 图见图 1。

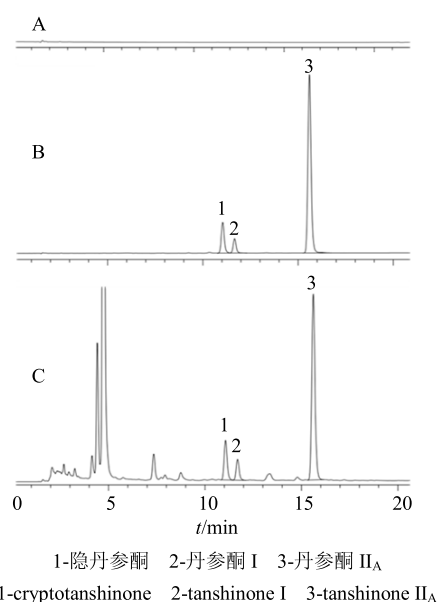


图 1 空白肠灌流液 (A)、混合对照品 (B) 和含药灌流液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of blank intestinal perfusion fluid (A), mixed reference substance (B), and drug-contained intestinal perfusion fluid (C)

2.2 试药的配制

2.2.1 TC-SEDDS 的制备 按油酸（油相）-聚山梨酯-20（表面活性剂）-Transcutol P（助表面活性剂）0.25：0.52：0.23 比例称取各 SEDDS 成分，混匀，加入过量的丹参酮原料药，37℃ 恒温震荡 24 h，

室温静置过夜, 取上清液, 即得 TC-SEDDS。

2.2.2 含不同质量浓度 TC-SEDDS 灌流液的制备 准确称取 0.220、0.110、0.055 g TC-SEDDS 各 3 份, 分别加入 200 mL pH 6.8 K-R 液中, 轻微搅拌, 即得含药灌流液。

2.2.3 含不同浓度盐酸维拉帕米的药物供试液的制备 精密称取盐酸维拉帕米 0.123 3 g, 加甲醇溶解并稀释至 25 mL, 摇匀, 即得储备液备用。准确称取 3 份 TC-SEDDS 各 0.110 g, 分别加入盐酸维拉帕米储备液 0.5、1.0、2.0 mL, 并以 pH 6.8 的 K-R 液定容至 100 mL, 摇匀, 即得含盐酸维拉帕米浓度分别为 0.05、0.10、0.50 mmol/L 的药物供试液。

2.2.4 含不同浓度丙磺舒的药物供试液的制备 精密称取丙磺舒 0.028 0 g, 加甲醇溶解并稀释至 25 mL, 摇匀, 即得丙磺舒储备液。称取 3 份 TC-SEDDS 各 0.110 g, 分别加入丙磺舒储备液 0.5、1.0、2.0 mL, 并以 pH 6.8 的 K-R 液定容至 100 mL, 摇匀, 即得含丙磺舒浓度分别为 0.02、0.04、0.08 mmol/L 的药物供试液。

2.2.5 含不同浓度 2,4-二硝基苯酚的药物供试液的制备 精密称取 2,4-二硝基苯酚 0.922 5 g, 加丙酮溶解并稀释至 25 mL, 摇匀, 即得 2,4-二硝基苯酚储备液。称取 3 份 TC-SEDDS 各 0.110 g, 分别加入 2,4-二硝基苯酚储备液 0.5、1.0、2.5 mL, 并以 pH 6.8 的 K-R 液定容至 100 mL, 摇匀, 即得含 2,4-二硝基苯酚浓度分别为 1.0、2.0、5.0 mmol/L 的药物供试液。

2.3 空白肠灌流液中各成分稳定性考察

取 SPF 级 SD 大鼠, 禁食 18 h(期间正常饮水), ip 20%乌拉坦 (5 mL/kg) 麻醉, 固定, 沿腹中线打开腹腔, 分别于十二指肠上部和回肠下部 2 端切口, 插入医用硅胶管, 结扎并固定, 与蠕动泵相连, pH 6.8 的 K-R 液以 0.31 mL/min 灌流 2 h, 灌流液 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得空白肠灌流液。

称取 TC-SEDDS 0.110 g 置于 25 mL 上述空白灌流液中, 摇匀, 于 37 °C 温育, 分别于 0、1、2、4、8、12、18、24 h 取样, 滤过, 续滤液进样分析, 比较隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分各时间点浓度与初始浓度的变化。

2.4 肠壁和管道对各成分的物理吸附

2.4.1 肠壁对各成分的物理吸附 取 SPF 级 SD 大鼠, 禁食 18 h(期间正常饮水), ip 20%乌拉坦 (5 mL/kg) 麻醉, 固定, 沿腹中线打开腹腔, 分段处理小肠, 以生理盐水冲净, 剪取约 10 cm, 用玻棒

将黏膜层翻出, 置于 50 mL 已知质量浓度的含药灌流液中, 于 (37.5±0.5) °C 孵育 2 h, 取出肠段, 测定孵育液中隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分的量, 并计算各成分质量浓度的 RSD 值。

2.4.2 灌流管路对各成分的物理吸附 为防止灌流管路对目标成分吸附而造成实验不准确, 参考文献的处理方法^[8]将灌流管路用含 87.2 μg 隐丹参酮、83.7 μg 丹参酮 I 和 79.7 μg 丹参酮 II_A 的甲醇溶液浸泡 12 h。称取 TC-SEDDS 0.11 g, 加 pH 6.8 K-R 液 200 mL, 轻微搅拌, 配制供试液, 以 0.31 mL/min 的灌流体积流量流过上述处理过的灌流管路, 分别于 0、30、60、90、120 min 测定灌流管路出口端 3 个成分的量, 比较供试液流经灌流管路前后的量变化。

2.5 在体单向肠灌流实验

SPF 级 SD 大鼠, 禁食 18 h(期间正常饮水), ip 20%乌拉坦溶液 (5 mL/kg) 麻醉并固定, 沿腹中线打开腹腔约 3 cm, 对需考察的肠段于 2 端开口后插管, 结扎固定, 考察肠段的长度为 10 cm, 入口处的插管与蠕动泵相连。手术完成后, 将伤口用以生理盐水浸润的纱布覆盖保湿, 红外灯保温。先以 37 °C 生理盐水将小肠内容物冲洗干净, 稳定 15 min 后泵入空气, 排尽肠道内液体, 改用装有供试液并已知质量的安瓿瓶进行肠灌流, 出口处用已知质量的 EP 管接收灌流液, 灌流体积流量控制在 0.31 mL/min, 自第 1 滴灌流液滴下开始计时, 前 30 min 灌流液不计, 以后每 20 分钟迅速更换 EP 管, 并称质量。计算泵入供试液的质量 (m_{in}), 并测定每 20 分钟内收集到流出液的质量 (m_{out}), 至 145 min 结束实验。剪下灌流肠段, 测量其长度 (l) 和周长, 由 3 次周长求得平均半径 (r)。灌流液滤过, 经超高效液相色谱仪进行测定, 据各数据计算药物吸收速率常数 (K_a) 和药物表观吸收系数 (P_{app})。

$$K_a = [1 - m_{out} \cdot Q_{out} / (m_{in} \cdot Q_{in})] / (Q/V)$$

$$P_{app} = -Q \times \ln[C_{out} \cdot Q_{out} / (C_{in} \cdot Q_{in})] / (2\pi r l)$$

Q_{in} 、 Q_{out} 分别为肠道进出口灌流液的体积 (mL); V 为灌流肠段体积; Q 为灌流体积流量; C_{in} 、 C_{out} 分别为肠道进出口灌流液中药物质量浓度; l 、 r 分别为被灌流肠段的长度 (cm) 和横截面积半径 (cm)

分别计算各肠段从 45~65 min 至 125~145 min 共 5 个时间段的 K_a 和 P_{app} 值, 并以 5 个时间段的 K_a 均值及 P_{app} 均值作为此动物该肠段的实际 K_a 和 P_{app} 值, 运用 SPSS 17.0 统计软件对结果进行单因素方差分析, 采用 GraphPad Prism 5 软件绘制其柱形图。

小肠在体灌流区间如下：十二指肠段自幽门 1 cm 处开始下行 10 cm；空肠段自幽门 15 cm 开始下行 10 cm；回肠段自盲肠段上行 20 cm 处开始 10 cm；结肠段自盲肠后段开始 10 cm。

3 结果

3.1 隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 在空白肠灌流液中的稳定性

隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分于空白肠灌流液中 37 ℃ 温育 24 h，测得质量浓度的 RSD 值均小于 5.0%，即各成分在空白肠灌流液中 24 h 内稳定性良好，见表 1。

3.2 肠壁和管道对各成分的物理吸附

肠壁吸附实验中，隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分在含药灌流液中孵育 2 h，各时间点测得各成分质量浓度的 RSD 值均小于 3.0%，可认为大鼠肠壁对药物基本无物理吸附。管道吸附实验中，各时间点测得 3 个成分质量浓度的 RSD 值均低于 2.5%，即灌流管路对各成分的吸附可忽略不计，见表 2。

3.3 大鼠在体肠吸收

3.3.1 各成分肠内吸收部位考察 考察隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分在十二指肠、空肠、

回肠和结肠段的吸收，结果见表 3。3 个成分在全肠段均有吸收，其中小肠上段（十二指肠）的吸收最佳。对隐丹参酮的吸收，十二指肠较空肠和回肠有显著性优势（ $P < 0.05$ 、 0.01 ）；丹参酮 I 的吸收中，十二指肠显著优于回肠（ $P < 0.01$ ）；十二指肠对丹参酮 II_A 的吸收显著高于回肠（ $P < 0.01$ ）。

表 1 隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 在空白肠灌流液中的稳定性

Table 1 Stability of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A in blank intestinal perfusion fluid

时间/h	$\rho/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II _A
0	0.486	0.402	0.628
1	0.486	0.409	0.631
2	0.473	0.391	0.617
4	0.469	0.395	0.606
8	0.461	0.381	0.598
12	0.453	0.387	0.596
18	0.448	0.389	0.587
24	0.465	0.377	0.579
RSD/%	2.976	2.690	3.110

表 2 肠壁和管道对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的物理吸附作用

Table 2 Physical adsorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A by intestinal wall and pipeline

时间/min	肠壁吸附实验孵育液中质量浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$			管道吸附实验孵育液中质量浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II _A	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II _A
0	0.481	0.394	0.624	0.481	0.394	0.624
30	0.476	0.389	0.619	0.476	0.389	0.619
60	0.479	0.382	0.611	0.479	0.382	0.611
90	0.466	0.373	0.608	0.466	0.373	0.608
120	0.462	0.376	0.602	0.462	0.376	0.602
RSD/%	1.766	0.228	1.429	1.766	0.228	1.429

表 3 隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 在不同肠段的吸收情况 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Absorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A in different intestinal segments ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

部位	隐丹参酮		丹参酮 I		丹参酮 II _A	
	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$
十二指肠	11.20 ± 1.53	12.36 ± 1.44	9.59 ± 1.44	9.43 ± 1.04	5.98 ± 0.90	5.64 ± 1.47
空肠	$7.66 \pm 0.66^*$	$7.58 \pm 0.49^{**}$	6.86 ± 0.69	7.70 ± 0.57	4.08 ± 0.74	4.75 ± 1.04
回肠	$5.74 \pm 0.80^{**}$	$6.10 \pm 0.68^{**}$	$4.10 \pm 0.97^{***}$	$4.51 \pm 1.17^{**}$	$3.41 \pm 0.52^*$	3.60 ± 0.67
结肠	$9.41 \pm 1.35^\Delta$	$8.86 \pm 0.88^*$	6.68 ± 1.18	$6.96 \pm 1.40^{*\Delta}$	$4.68 \pm 0.30^\Delta$	4.66 ± 0.35

与十二指肠比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ；与空肠比较：* $P < 0.05$ ；与回肠比较： $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs duodenum；* $P < 0.05$ vs jejunum； $\Delta P < 0.05$ vs ileum

3.3.2 不同质量浓度药物的吸收考察 考察不同质量浓度的隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分在十二指肠段的吸收。结果见表 4。不同质量浓度隐丹参酮在十二指肠吸收的优劣顺序：高质量浓度组 ($P<0.01$) > 中质量浓度组 ($P<0.05$) > 低质量浓度组。丹参酮 I 在十二指肠吸收的优劣顺序：

高质量浓度组 ($P<0.01$) > 低质量浓度组。而不同质量浓度的丹参酮 II_A 在十二指肠的吸收没有显著性差异 ($P>0.05$)。表明隐丹参酮在 1.05~4.19 mg/L、丹参酮 I 在 1.22~5.56 mg/L 内肠吸收具有质量浓度依赖效应，而丹参酮 II_A 在 2.43~11.12 mg/L 内肠吸收与质量浓度无明显关系。

表 4 不同质量浓度隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的肠吸收 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Absorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A in different concentration ($\bar{x} \pm s, n=6$)

隐丹参酮			丹参酮 I			丹参酮 II _A		
$\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$
4.19	13.29±1.11	14.37±2.53	5.56	10.82±3.38	12.88±1.37	11.12	7.29±0.93	6.71±1.14
2.11	11.20±1.53	12.36±2.44	2.40	9.59±1.44	9.44±2.04	4.76	6.58±0.90	5.94±1.47
1.05	6.55±0.77**▲	6.66±0.88**▲	1.22	6.08±0.73	5.93±0.74**	2.43	7.60±1.22	8.29±1.63

与高质量浓度比较：** $P<0.01$ ；与中质量浓度比较：▲ $P<0.05$

** $P<0.01$ vs high concentration group; ▲ $P<0.05$ vs middle concentration group

3.3.3 P-gp 抑制剂对药物肠吸收的影响 考察不同浓度 P-gp 抑制剂盐酸维拉帕米^[8]对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分在十二指肠段吸收的影响。结果见表 5。不同浓度 P-gp 抑制剂盐酸维拉帕米对隐丹参酮和丹参酮 I 的吸收影响无显著性差异 ($P>0.05$)。抑制剂高浓度、中浓度组的吸收与抑制剂低浓度组、不含抑制剂组相比，丹参酮 II_A 的吸收显著增强 ($P<0.01$)，提示盐酸维拉帕米可促进丹参酮 II_A 的肠吸收，导致丹参酮 II_A 肠吸收的速率和吸收量均增加。丹参酮 II_A 可能是 P-gp 底物，而隐丹参酮和丹参酮 I 可能不是 P-gp 底物。

3.3.4 MRP2 抑制剂丙磺舒对药物肠吸收的影响 考察不同浓度 MRP2 抑制剂丙磺舒^[8]对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分在空肠段吸收的影响，结果见表 6。隐丹参酮肠吸收的优劣顺序：抑制剂高浓度组 ($P<0.01$)、抑制剂中浓度组 ($P<0.01$)、抑制剂低浓度组 ($P<0.05$) > 不含抑制剂组；丹参酮 I 肠吸收的优劣顺序：抑制剂高浓度组

($P<0.01$)、抑制剂中浓度组 ($P<0.05$)、抑制剂低浓度组 ($P<0.05$) > 不含抑制剂组。即抑制剂浓度由 0 mmol/L 增加到 0.08 mmol/L，隐丹参酮和丹参酮 I 的肠吸收显著增加。表明 MRP2 对 2 个成分的肠吸收过程有外排作用，隐丹参酮和丹参酮 I 均可能是 MRP2 的底物；丙磺舒对丹参酮 II_A 的肠吸收过程无显著影响，即丹参酮 II_A 可能不是 MRP2 的底物。

3.3.5 能量抑制剂 2,4-二硝基苯酚对药物肠吸收的影响 考察不同浓度的能量抑制剂 2,4-二硝基苯酚^[9]对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个成分在回肠段吸收的影响，结果见表 7。隐丹参酮肠吸收的优劣顺序：不含抑制剂组 > 抑制剂高浓度组 (K_a 、 P_{app} 值， $P<0.01$) 和抑制剂中、低浓度组 (P_{app} 值， $P<0.05$)；丹参酮 I 肠吸收的优劣顺序：不含抑制剂组 > 抑制剂低浓度组 (K_a 、 P_{app} 值， $P<0.05$)；丹参酮 II_A：抑制剂低浓度组、不含抑制剂组 > 抑制剂中、高浓度组 (K_a 、 P_{app} 值， $P<0.01$)。抑制剂

表 5 P-gp 抑制剂盐酸维拉帕米对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 肠吸收的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Effects of P-gp inhibitor verapamil hydrochloride on intestinal absorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A ($\bar{x} \pm s, n=6$)

维拉帕米/ (mmol·L ⁻¹)	隐丹参酮		丹参酮 I		丹参酮 II _A	
	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-3}\cdot\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$
0	2.46±0.21	2.85±0.30	2.38±0.21	2.74±0.30	0.73±0.09	0.77±0.07
0.05	2.42±0.49	2.50±0.51	2.47±0.81	2.82±0.93	0.93±0.22	1.06±0.29
0.10	2.42±0.70	2.59±0.62	2.27±0.46	2.40±0.63	2.72±0.41***◆	3.00±0.48***◆
0.50	3.41±0.89	4.30±1.47	3.40±0.33	3.82±0.40	4.15±0.70***◆	4.38±0.63***◆

与 0 mmol·L⁻¹ 盐酸维拉帕米比较：** $P<0.01$ ；与 0.05 mmol·L⁻¹ 盐酸维拉帕米比较：◆◆ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs 0 mmol·L⁻¹ verapamil hydrochloride group; ◆◆ $P<0.01$ vs 0.05 mmol·L⁻¹ verapamil hydrochloride group

表 6 MRP2 抑制剂丙磺舒对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 肠吸收的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 6 Effects of MRP2 inhibitor probenecid on intestinal absorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

丙磺舒/ (mmol·L ⁻¹)	隐丹参酮		丹参酮 I		丹参酮 II _A	
	$K_a/(\times 10^{-2} \cdot h^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \cdot cm \cdot s^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2} \cdot h^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \cdot cm \cdot s^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2} \cdot h^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \cdot cm \cdot s^{-1})$
0	2.00 ± 0.10	2.54 ± 0.15	1.89 ± 0.17	1.96 ± 0.25	5.11 ± 0.79	5.01 ± 1.10
0.02	3.72 ± 0.92*	4.19 ± 1.10	3.53 ± 0.52*	3.93 ± 0.54*	5.73 ± 0.94	5.74 ± 0.72
0.04	4.41 ± 0.49**	4.25 ± 0.73	3.82 ± 0.45*	3.76 ± 0.64*	6.10 ± 0.76	6.05 ± 0.51
0.08	5.59 ± 0.75**	5.57 ± 0.67**	5.38 ± 0.86**	5.71 ± 0.61**	6.99 ± 0.84	7.04 ± 0.73

与 0 mmol·L⁻¹ 丙磺舒比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs 0 mmol·L⁻¹ probenecid group表 7 能量抑制剂 2,4-二硝基苯酚对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 肠吸收的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 7 Effects of energy inhibitor 2,4-dinitrophenol on intestinal absorption of cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2,4-二硝基苯 酚/(mmol·L ⁻¹)	隐丹参酮		丹参酮 I		丹参酮 II _A	
	$K_a/(\times 10^{-2} \cdot h^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \cdot cm \cdot s^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2} \cdot h^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \cdot cm \cdot s^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-2} \cdot h^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \cdot cm \cdot s^{-1})$
0	3.08 ± 0.32	3.31 ± 0.43	2.03 ± 0.29	2.41 ± 0.52	6.09 ± 0.69	6.14 ± 0.76
1	1.97 ± 0.19	2.06 ± 0.06*	1.63 ± 0.12	1.77 ± 0.62	4.51 ± 0.29	4.55 ± 0.34
2	1.86 ± 0.16	1.89 ± 0.14*	1.26 ± 0.18	1.30 ± 0.03*	1.57 ± 0.23***	1.73 ± 0.26***
5	1.50 ± 0.17**	1.66 ± 0.15**	0.72 ± 0.09* [▲]	0.71 ± 0.01**	1.66 ± 0.35***	1.68 ± 0.44***

与 0 mmol·L⁻¹ 2,4-二硝基苯酚比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 1 mmol·L⁻¹ 2,4-二硝基苯酚比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs 0 mmol·L⁻¹ 2,4-dinitrophenol group; [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs 1 mmol·L⁻¹ 2,4-dinitrophenol group

2,4-二硝基苯酚的浓度由 0 mmol/L 增加到 5 mmol/L, 隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的肠吸收显著降低。表明隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的肠吸收过程均有能量依赖作用。

4 讨论

本研究采用 FDA 认可^[10]的大鼠在体单向肠灌流实验预测 TC-SEDSS 的口服生物利用度, 并以质量法对实验结果进行校正, 具有不切断血管及神经、能真实反映药物小肠吸收的特点, 且直观简洁、可行、易操作、结果稳定。

TC-SEDSS 中, 隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 在全肠段均有吸收, 其中小肠上段吸收最佳, 又其在体肠灌流的平均 $P_{app} > 2 \times 10^{-3} \text{ cm/s}$, 可预测 TC-SEDSS 中这 3 个成分在人体内能吸收完全。隐丹参酮和丹参酮 I 的吸收受丙磺舒的影响, 它们可能是 MRP2 的底物且能依赖 MRP2 实现在小肠的吸收。丹参酮 II_A 可能是 P-gp 的底物, 能依赖 P-gp 实现在小肠的吸收。3 个成分的吸收过程均伴有能量依赖特征。考虑其吸收可能存在主动转运作用。

丹参酮类成分的脂溶性特点使溶出成为其口服吸收过程的限速步骤^[11]。SEDSS 具有增加药物

溶解度, 促进药物渗透吸收, 提高其口服生物利用度等特点^[12-14]。鉴于此, 课题组采用 SEDDS 实现了对隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 3 个丹参酮类成分的同时增溶作用, 且其体外溶出度极高。本研究在此基础上采用大鼠在体单向肠灌流实验研究 TC-SEDSS 的渗透吸收特点, 结果, TC-SEDSS 制剂中隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的肠吸收均良好。因 3 个成分在肠灌流实验中无法溶于灌流液, 故无法与原料药的肠灌流结果对比, 无法证明 SEDDS 的促渗作用, 课题组将继续研究 TC-SEDSS Caco-2 细胞模型的渗透吸收及大鼠口服入血吸收动力学特征, 以验证 SEDDS 促进丹参酮类组分渗透吸收, 并提高其口服生物利用度的作用。

参考文献

- [1] 闫红波, 吴清, 杜守颖, 等. 丹参酮类成分及丹参脂溶性提取物在大鼠小肠内的吸收机制比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(21): 2917-2922.
- [2] 吴杲, 何招兵, 吴汉斌. 丹参酮的药理作用研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(10): 1382-1385.
- [3] 郑娟, 沈成英, 庞建云, 等. 丹参酮 II_A 纳米结构脂质载体的体外评价及其对 HaCaT 细胞增殖的影响 [J].

- 中草药, 2016, 47(24): 4340-4344.
- [4] 葛宇清, 杨波, 程汝滨, 等. 隐丹参酮对 K562 细胞凋亡的影响及其机制 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3188-3194.
- [5] Zhai X F, Li C G, Lenon G B, *et al.* Preparation and characterisation of solid dispersions of tanshinone II_A, cryptotanshinone and total tanshinones [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2016, doi: 10.1016/j.ajps.2016.08.004.
- [6] Wang X L, Gao W, Sun M. Pharmacokinetic investigation on interaction between hydrophilic lithospermic acid B and lipophilic tanshinone II_A in rats: An experimental study [J] *Tradit Chin Med*, 2015, 35(2): 206-210.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [8] 王进荣. 在体单向灌流法评价大黄游离蒽醌肠吸收机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [9] 吴正红, 周静, 平其能, 等. 靛玉红肠吸收机制的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2006, 37(6): 494-498.
- [10] Cook T J, Shenoy S S. Intestinal permeability of chlorpyrifos using the single-pass intestinal perfusion method in the rat [J]. *Toxicology*, 2003, 184(2/3): 125-133.
- [11] 王凌, 蒋学华, 周静, 等. 羟丙基-β-环糊. 精包合物中丹参脂溶性成分吸收机理的研究 [J]. 生物医学工程杂志, 2006, 23(3): 592-596.
- [12] 柯秀梅, 杨荣平, 郭响香, 等. 自乳化释药系统 (SEDDS) 对姜黄素类组分增溶作用的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 935-941.
- [13] Saeed A, Alaadin A, Sami N, *et al.* Nonlinear Absorption kinetics of self-emulsifying drug delivery systems (sedds) containing tocotrienols as lipophilic molecules: *in vivo* and *in vitro* studies [J]. *AAPS J*, 2013, 5(3): 684-695.
- [14] Valicherla G R, Dave K M, Syed A A, *et al.* Formulation optimization of docetaxel loaded self-emulsifying drug delivery system to enhance bioavailability and anti-tumor activity [J]. *Sci Rep*, 2016, doi:10.1038/srep26895.

中国商品学会第五届全国中药商品学术大会在哈尔滨召开

2017年5月12日—14日, 由中国商品学会主办, 哈尔滨商业大学承办的“中国商品学会第五届全国中药商品学术大会”在黑龙江省哈尔滨市成功召开。

本次会议吸引国内外近120位知名中药学专家前来参会。来自高等院校、科研院所、制药企业及相关领域从事中药产品生产、开发、研究等相关研发、技术、管理人员参加了此次会议, 共同再论传承创新、合作发展的战略主题。期间召开了第一届中药专业委员会第二次工作会议, 各位委员会理事详细讨论了中国商品学会中药专业委员会今后的发展目标。

会议在张贵君教授“传统中药向药效组分新中药发展的前瞻性目标”的开幕词中拉开帷幕。哈尔滨商业大学副校长张晓丹教授在致辞中表示, 在中医药法颁布以及屠呦呦获得诺贝尔奖的特殊历史时期, 以“传承创新, 合作发展”为主题的本次学术大会对中医药传承、中医药商品学内涵建设将起到积极的推动作用。会议邀请黑龙江中医药大学副校长王喜军教授、韩国全南生物产业振兴院天然资源研究中心院长成乐宣教授、清华大学孙素琴教授、天津中医药大学中药学院院长邱峰教授、南开大学药学院副院长白钢教授、哈尔滨商业大学药学院院长李文兰教授、中检科标(北京)中药认证中心首席专家滑艳利、长春中医药大学张炜煜教授等做了精彩的专题报告, 围绕中药商品化、产业化方面所面临的机遇和挑战等进行广泛研讨。

(李红珠)