

基于“自洽调节”的葛根异黄酮类成分对葛根素溶解性及渗透性影响研究

管咏梅, 万鑫浩, 邹斌, 吴文婷*, 陈丽华, 朱卫丰*

江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

摘要:目的 基于中药整体观, 以葛根 *Puerariae Lobatae Radix* 自身作为整体, 考察葛根异黄酮类成分对葛根素溶解度及渗透性的调节作用, 探讨单味中药所含成分发挥作用时的“自洽性”。方法 选取葛根中 3 种高含量黄酮类成分 3'-羟基葛根素、大豆苷元和染料木苷, 设计人工多成分环境, 采用平衡溶解度的研究方法考察 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中多成分环境下葛根素溶解度的变化; 采用在体单向肠灌注模型考察葛根异黄酮类成分对葛根素肠吸收的调节作用。结果 实验结果表明, 不同成分背景、不同成分组合及其不同比例的 3'-羟基葛根素、大豆苷元、大豆苷和染料木苷对葛根素溶解度与渗透性均有一定的影响。采用递进式进行 2 成分及 3 成分背景的溶解度研究, 表明葛根素溶解度和渗透性变化均存在“叠加性”和“饱和性”的特点, 溶解性方面: 以葛根自身成分为整体, 在水溶液体系中各异黄酮类成分对葛根素溶解度提高了 42.60%, 在 pH 7.4 缓冲液体系中提高了 18.62%。渗透性方面: 葛根素的肠渗透性具有“叠加效应”。以葛根自身成分为整体, 主要异黄酮类成分 3'-羟基葛根素、染料木苷及大豆苷元对葛根素的肠渗透系数表观渗透系数 (apparent permeability coefficients, P_{app})、肠吸收速率常数 (absorptive promoter, K_a)、肠吸收分数 (intestinal absorption fraction, F_a) 分别提高 220%、236%、213%, 即对葛根素的肠渗透性提升了约 220%。结论 以上研究表明, 葛根异黄酮类成分在人体作用时可能存在“叠加效应”, 葛根素在葛根自身多组分环境中具有部分“自洽性”, 从而改善了葛根素生物利用度。

关键词: 葛根异黄酮; 溶解性; 渗透性; 叠加效应; 自洽调节; 自洽性; 葛根素; 大豆苷元; 染料木苷; 单向肠灌注

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)23-7138-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.23.008

Effect of isoflavones from *Puerariae Lobatae Radix* on solubility and permeability of puerarin based on “self-consistent regulation”

GUAN Yong-mei, WAN Xin-hao, ZOU Bin, WU Wen-ting, CHEN Li-hua, ZHU Wei-feng

Key Laboratory of Modern Chinese Medicine Preparations, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective Based on the integrality of traditional Chinese medicine, took Gegen (*Puerariae Lobatae Radix*) itself as a whole, the effects of isoflavones from *Puerariae Lobatae Radix* on the solubility and permeability of puerarin were investigated to discuss “self-consistency” of the compounds within single Chinese medicine. **Methods** Three high content components in pueraria flavonoid group, including 3'-hydroxypuerarin, daidzein and genistin, were selected to design an artificial multi-component environment. The method of equilibrium solubility was employed to measure the solubility of puerarin in pH 7.4 phosphate buffer. The effects of the pueraria isoflavone on the permeability of puerarin were investigated by means of single-pass intestinal perfusion technique. **Results** The results showed that the solubility and permeability of puerarin were affected by different composition backgrounds, different composition combinations and different proportions of 3'-hydroxypuerarin, daidzein, daidzein and genistein. The solubility of two-component and three-component backgrounds was studied by a progressive formula. The results showed that the solubility and permeability of puerarin both had the characteristics of “superposition” and “saturation”. Solubility: Taking the components of pueraria as a whole, the solubility of pueraria was increased by 42.60% by different flavonoids in the aqueous solution

收稿日期: 2021-06-18

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2017YFC1702904); 江西省现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (JXARS-16); 江西省重点研发计划项目 (20192BBG70074)

作者简介: 管咏梅, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 从事中药新制剂与新技术及食疗学研究。E-mail: guanym2008@163.com

*通信作者: 朱卫丰, 教授, 博士研究生导师, 博士, 研究方向为中药新剂型与新制剂研究。E-mail: zwf0322@126.com

吴文婷, 讲师, 从事中药制剂与工程技术研究。E-mail: wuwenting0109@163.com

system. The increase rate was 18.62% in pH 7.4 buffer liquid system. Permeability: The intestinal permeability of puerarin had a “superposition effect”. The intestinal permeability coefficients P_{app} , K_a and F_a of puerarin were increased by 220%, 236% and 213% respectively by isoflavones 3'-hydroxypterarin, genitin and daidzein taking the root itself as the whole. That is, the intestinal permeability of puerarin was increased by about 220%. **Conclusion** The above studies indicated that the isoflavones from pueraria may have a “superposition effect” in the human body, and pueraria is partially “self-consistent” in the multi-component environment of pueraria itself, thus improving the bioavailability of pueraria.

Key words: isoflavones from *Puerariae Lobatae Radix*; solubility; permeability; superposed effect; self-consistent regulation; self-consistency; puerarin; daidzein; genistein; in-situ single pass intestinal perfusion

从生态学的角度出发,相互联系的成分才能构成一个整体,因此,中药整体观在开展中药相关研究中的重要性逐渐凸显,一味地追求单体化合物而忽视中药的多组分/多成分整体作用是亟待解决的关键问题,不仅中药复方如此,单味中药亦如此,均离不开整体作用的特点^[1],且这种整体作用不仅表现在临床疗效上,也会表现在发挥疗效的前端性质(如溶解性、渗透性等理化性质)上。中药自有成分之间必然存在某些相互作用,一种成分对另一种成分的性质极有可能产生抑制或促进的作用,进而决定中药整体表现出来的物性或药性,这在自然界属于逻辑合理,可认为是物体在自然界存在的“自洽性”。

药物从口服到起效必先经过溶解和吸收 2 个过程,而多成分是中药临床使用的基本特征^[2],因此某单一成分的溶解和吸收极大可能会受到多成分环境的影响,从而影响其体内行为并影响生物利用度。葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根,习称野葛,始载于《神农本草经》,是我国传统的药食同源的植物^[3]。葛根素是其主要生物活性成分之一,具有广泛的药理效应^[5],然而,葛根素属 BCS 分类系统 IV 类化合物^[4],具有低水溶性和脂溶性,肠渗透性差,限制了其临床应用。本课题组在前期文献研究^[5]中发现愈风宁心片中葛根素的生物利用度较低,但愈风宁心片临床确有其效。另有研究者考察了葛根提取物中黄豆苷元、染料木素对葛根素小肠吸收的影响,发现二者均能促进葛根素的吸收、抑制外排^[6],也有学者对比考察了葛根提取物给药与单体给药时葛根素的体内吸收效果差异^[7],发现提取物给药的肠吸收效果优于单体给药,且葛根提取物体内的药动学在高剂量给药时优于葛根素^[8]。综上,可推测多成分环境背景对葛根素的溶解性与渗透性有着重要影响。目前,单一成分的溶解和渗透研究已经有了较成熟的评价体系与研究方法,而以中药自身为整体,研究多成分环境

下某一成分溶解及吸收情况的研究仍旧少见,值得深入研究^[9]。

中药整体性可分为 3 个层次:第 1 层是单体成分,为中药组成的基本单元;第 2 层是组分,是指结构相似的单体成分按一定比例构成的单元;第 3 层是提取物,是指不同的组分按一定比例构成的集合体。因此,本研究选取葛根黄酮类组分的 3 种高含量成分^[10],即 3'-羟基葛根素、大豆苷元及染料木苷设计人工多成分环境,采用递进式方法,考察黄酮类组分中的其他成分对葛根素溶解度及渗透性的影响规律,为后期葛根整体表征及多元释药系统的设计提供依据,也可为其他含有异黄酮类组分的中药间成分的溶解和吸收相互作用提供参考和借鉴。

1 仪器与材料

1.1 仪器

CAP225 型十万分之一电子天平,德国 Sartorius 公司;Waters2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 科技有限公司;PHS-3C 型 pH 计,上海雷磁仪器有限公司;SIGMA3-18K 型高速离心机,德国 Sigma 公司;QYC-200 型恒温摇床,上海福玛实验设备有限公司;EPED 型超纯水仪,南京易普达科技发展有限公司;BT100-1F 型恒流泵,保定兰格恒流泵有限公司;DL28-1000 μ L 型移液枪,英国 Eppendorf 公司;Vortex-Genius3 型涡旋仪,德国 IKA 仪器设备有限公司。

1.2 药物

葛根素对照品,批号 110752-201615,质量分数 98.4%,中国食品药品检定研究院;对照品 3'-羟基葛根素(批号 CHB170224,质量分数 98.6%)、染料木苷(批号 CHB170223,质量分数 98.7%)、大豆苷元(批号 CHB180717,质量分数 98.6%),成都克洛玛生物科技有限公司;原料药葛根素原料(批号 17112806,质量分数 98.4%)、3'-羟基葛根素(批号 18102401,质量分数 98.6%)、染料木苷(批号 18101603,质量分数 98.3%)、大豆苷元(批号

17122504, 质量分数 98.8%), 成都普菲德生物科技有限公司。

1.3 试剂

甲醇, 乙腈, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 超纯水, 南京易普达科技发展有限公司; 磷酸二氢钾、盐酸、氢氧化钠, 西陇科学股份有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.4 动物

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 200~250 g, 湖南斯莱景克达实验动物有限公司提供, 生产许可证号: SCXK(湘)2016-0002, 实验动物质量合格证号: SYXK(赣)2017-0004。大鼠饲养和使用等符合中国《实验动物管理条例》。所有动物实验遵循江西中医药大学有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 溶解度实验

2.1.1 溶液的配制

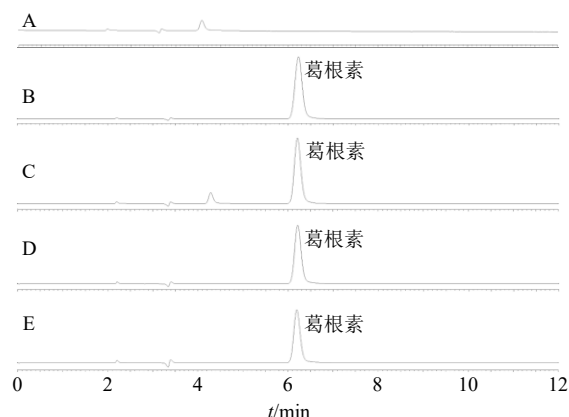
(1) pH 7.4 缓冲液配制: 取磷酸二氢钾 6.8 g, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 395 mL 稀释定容至 1000 mL, 即得。

(2) 葛根素对照品溶液制备: 精密称取葛根素对照品 10.27 mg 于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 超声溶解, 摇匀, 制成质量浓度为 1.027 mg/mL 的对照品储备液。取质量浓度为 1.027 mg/mL 的葛根素对照品储备液 1.5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 超声溶解, 摇匀, 制成质量浓度为 154.05 μ g/mL 的对照品溶液。

(3) 空白对照品溶液制备: 吸取甲醇溶剂适量, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.2 色谱条件 Silversil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 以乙腈-水(85:15)为流动相, 进行等度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 250 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 10 μ L。

2.1.3 方法学考察 实验建立了溶解度溶液中葛根素含量测定方法, 专属性试验表明, 空白对照品溶液与各供试品溶液不会对葛根素测定产生干扰, 结果见图 1; 线性范围考察结果表明, 葛根素在 4.81~154.05 μ g/mL 与其峰面积呈良好的线性关系; 精密密度试验结果表明, 葛根素日内、日间精密密度良好, 日内、日间精密密度 RSD 值分别为 3.72% 和 1.58%; 重复性、稳定性均符合规定; 回收率试验结果表明, 高、中、低质量浓度的平均回收率分别为 95.23%、



A-空白对照品溶液 B-葛根素对照品溶液 C-葛根素+3'-羟基葛根素供试品溶液 D-葛根素+染料木苷供试品溶液 E-葛根素+大豆苷元供试品溶液
A-blank reference solution B-puerarin reference solution C- puerarin + 3'-hydroxy puerarin test solution D- puerarin + genistin test solution E- puerarin + daidzein test solution

图 1 溶解度实验专属性色谱图

Fig. 1 Specificity chromatogram of solubility experiment

100.30%、98.67%, 均符合规定。

2.1.4 固定比例下单体成分对葛根素溶解度的影响 葛根中 3'-羟基葛根素约占葛根素的 15.08%, 染料木苷约占葛根素的 2%, 大豆苷元约占葛根素的 3%^[10]。精密称取葛根素原料适量, 加入上述配比的 3'-羟基葛根素原料、染料木苷原料及大豆苷元原料, 置 10 mL 具塞试管中(平行 3 份), 分别加入适量 pH 7.4 缓冲液, 将试管置于恒温振荡器中, 温度保持(37±1) $^{\circ}$ C 持续振荡 24 h, 静置后离心, 取上清液, 稀释至适宜质量浓度后过 0.45 μ m 滤膜, 进行 HPLC 分析, 色谱图见图 1。

研究表明^[9]葛根素在 pH 7.4 缓冲液中溶解度最高, 在 pH 7.4 缓冲液中葛根素解离型所占比例增加, 使实验测定的误差减少, 同时考虑到葛根素在体肠吸收实验中所用 Krebs-Ringer's 缓冲液(K-R 液) pH 为 7.4(肠道生理环境), 2 部分实验所选择的 pH 背景应保持一致, 故选 pH 7.4 缓冲液为研究环境。考察葛根黄酮组分中 4 大主要成分(3'-羟基葛根素、染料木苷、大豆苷元、大豆苷)与葛根素按照组分内成分间比例组合后葛根素的溶解度变化情况。结果(表 1)表明, 在溶剂 pH 7.4 的缓冲液中, 15.08% 3'-羟基葛根素、2% 染料木苷、3% 大豆苷元和 18.24% 大豆苷均能增加葛根素的溶解度, 分别增加了 11.06%、6.92%、2.13% 和 5.18%, 可见组分内 3'-羟基葛根素对葛根素的促溶解效果最佳。

2.1.5 梯度比例下单体成分对葛根素溶解度的影响

表 1 pH 7.4 缓冲液中加入不同比例单体成分后对葛根素溶解度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of adding proportion of each single component to pH 7.4 buffer on solubility of puerarin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

实验号	成分比例	溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	影响比/%
1	葛根素	7 708.124 $\pm$ 133.918	0
2	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素	8 561.069 $\pm$ 86.253**	11.06 $\pm$ 1.12
3	葛根素+2%染料木苷	8 241.522 $\pm$ 364.953*	6.92 $\pm$ 4.73
4	葛根素+3%大豆苷元	7 862.692 $\pm$ 99.304	2.13 $\pm$ 1.42
5	葛根素+18.24%大豆苷	8 276.517 $\pm$ 95.955*	5.08 $\pm$ 2.80

与葛根素组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 影响比=(加入不同比例单体成分后葛根素溶解度-葛根素原始溶解度)/葛根素原始溶解度, 下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs puerarin group, influence ratio = (solubility of puerarin after adding different proportions of monomer components - original solubility of puerarin)/original solubility of puerarin, same as below tables

基于葛根中各成分比例, 进行各成分加入梯度比例实验。精密称取葛根素原料适量, 分别加入梯度比例为 2%、5%、10%、20%、30% 的 3'-羟基葛根素原料、染料木苷原料及大豆苷元原料, 精密称取葛根素原料适量, 加入上述配比的 3'-羟基葛根素原料、染料木苷原料及大豆苷元原料, 置 10 mL 具塞试管中 (平行 3 份), 分别加入适量 pH 7.4 缓冲液, 将试管置于恒温振荡器中, 温度保持 (37 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 持续振荡 24 h, 静置后离心, 取上清液, 稀释至适宜浓度后过 0.45 μm 滤膜, 进行 HPLC 分析。

在 pH 7.4 的缓冲液中, 考察组分内各主要成分按梯度比例 (2%、5%、10%、15%、20%、30%)

加入后对葛根素溶解度的影响。研究结果发现, 随着 3'-羟基葛根素投入梯度比的增加, 葛根素溶解度逐渐增加, 分别提高了 0.16%、2.57%、5.36%、11.07%、11.52% 和 12.22%, 如表 2 所示。

随着染料木苷梯度比例的增加, 葛根素的溶解度也呈现增加的趋势, 葛根素溶解度分别提高了 6.92%、8.34%、11.73%、11.24%、11.71%、17.82%, 如表 3 所示。

而加入大豆苷元时, 葛根素溶解度分别提高了 2.13%、-2.06%、-3.51%、-29.79%、-34.21% 和 -24.80%, 呈现出先升后降再升的趋势, 当投入比例为 20% 时, 葛根素溶解度降至最低, 如表 4 所示。

表 2 pH 7.4 缓冲液中不同梯度比例 3'-羟基葛根素对葛根素溶解度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of gradient ratio 3'-hydroxy puerarin on the solubility of puerarin in pH 7.4 buffer ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

实验号	成分比例	溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	影响比/%
1	葛根素	7 708.124 $\pm$ 133.918	0
2	葛根素+2% 3'-羟基葛根素	7 720.527 $\pm$ 322.601	0.16 $\pm$ 4.18
3	葛根素+5% 3'-羟基葛根素	7 906.250 $\pm$ 228.129	2.57 $\pm$ 2.96
4	葛根素+10% 3'-羟基葛根素	8 120.944 $\pm$ 262.763*	5.36 $\pm$ 3.41
5	葛根素+15% 3'-羟基葛根素	8 561.069 $\pm$ 86.253**	11.07 $\pm$ 1.12
6	葛根素+20% 3'-羟基葛根素	8 596.054 $\pm$ 129.919**	11.52 $\pm$ 1.69
7	葛根素+30% 3'-羟基葛根素	8 649.982 $\pm$ 162.101**	12.22 $\pm$ 2.10

表 3 pH 7.4 缓冲液中不同梯度比例染料木苷对葛根素溶解度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of genistin with gradient ratio in pH 7.4 buffer on solubility of puerarin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

实验号	成分比例	溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	影响比/%
1	葛根素	7 708.124 $\pm$ 133.918	0
2	葛根素+2%染料木苷	8 241.522 $\pm$ 364.953	6.92 $\pm$ 4.73
3	葛根素+5%染料木苷	8 350.971 $\pm$ 135.980	8.34 $\pm$ 1.76
4	葛根素+10%染料木苷	8 612.430 $\pm$ 74.719*	11.73 $\pm$ 0.97
5	葛根素+15%染料木苷	8 574.609 $\pm$ 427.251*	11.24 $\pm$ 5.54
6	葛根素+20%染料木苷	8 610.605 $\pm$ 304.560*	11.71 $\pm$ 3.95
7	葛根素+30%染料木苷	9 081.423 $\pm$ 302.234**	17.82 $\pm$ 3.92

表 4 pH 7.4 的缓冲液中不同梯度比例大豆苷元对葛根素溶解度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 4 Effect of gradient ratio daidzein on solubility of puerarin in pH 7.4 buffer ($\bar{x} \pm s, n=3$)

实验号	成分比例	溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	影响比/%
1	葛根素	7 708.124 $\pm$ 133.918	0
2	葛根素+2%大豆苷元	7 872.692 $\pm$ 109.304	2.13 $\pm$ 1.42
3	葛根素+5%大豆苷元	7 549.418 $\pm$ 192.193	-2.06 $\pm$ 2.49
4	葛根素+10%大豆苷元	7 437.370 $\pm$ 116.000	-3.51 $\pm$ 1.50
5	葛根素+15%大豆苷元	5 412.183 $\pm$ 40.424**	-29.79 $\pm$ 0.52
6	葛根素+20%大豆苷元	5 070.902 $\pm$ 148.397**	-34.21 $\pm$ 1.93
7	葛根素+30%大豆苷元	5 796.391 $\pm$ 289.693**	-24.80 $\pm$ 3.76

按照梯度, 逐渐增加大豆苷的比例, 葛根素的溶解度先增后降。葛根素溶解度分别增加了 1.95%、1.88%、3.17%、5.13%、6.08%、4.72%, 见表 5。

以实验中各成分的加入比例为横坐标 (x), 实验结果葛根素溶解度为纵坐标 (y), 采用 Excel 2010

对表 2~4 进行 1 元 2 次或 1 元 3 次多项式回归模型拟合。结果表明, 在 pH 7.4 缓冲液体系中, 按照梯度, 逐渐增加 3'-羟基葛根素、染料木苷、大豆苷元和大豆苷的比例后, 葛根素溶解度的变化趋势符合多次项回归方程。具体见表 6。

表 5 pH 7.4 缓冲液体系中不同梯度大豆苷比例对葛根素溶解度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 5 Effect of PUR solubility by adding gradient DI proportion in pH 7.4 buffer system ($\bar{x} \pm s, n=3$)

实验号	成分比例	溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	影响比/%
1	葛根素	7 708.124 $\pm$ 133.918	0
2	葛根素+2%大豆苷	7 858.179 $\pm$ 134.498	1.95 $\pm$ 1.74
3	葛根素+5%大豆苷	7 853.008 $\pm$ 67.326	1.88 $\pm$ 0.87
4	葛根素+10%大豆苷	7 952.837 $\pm$ 295.177	3.17 $\pm$ 3.83
5	葛根素+15%大豆苷	8 103.358 $\pm$ 182.631	5.13 $\pm$ 2.37
6	葛根素+20%大豆苷	8 176.517 $\pm$ 215.955*	6.08 $\pm$ 2.80
7	葛根素+30%大豆苷	8 071.887 $\pm$ 159.306	4.72 $\pm$ 2.07

表 6 pH 7.4 缓冲液体系中葛根素溶解度试验数据拟合方程

Table 6 Fitting equation of test data of puerarin solubility in pH7.4 buffer system

环境成分	拟合方程	R^2
3'-羟基葛根素	$y = -1.647 1 x^2 + 87.393 x + 7 518.8$	0.970 6
染料木苷	$y = 0.148 8 x^3 - 6.862 7 x^2 + 107.03 x + 8 027.8$	0.983 0
大豆苷元	$y = 0.771 5 x^3 - 30.976 x^2 + 176.3 x + 7 573.1$	0.938 2
大豆苷	$y = -0.082 7 x^3 + 3.207 6 x^2 - 15.138 x + 7 869.6$	0.992 9

2.1.6 多成分组合对葛根素溶解度的影响 参考文献方法^[10], 可知葛根中以葛根素为对象, 3'-羟基葛根素约占葛根素的 15.08%, 染料木苷约占葛根素的 2%, 大豆苷元约占葛根素的 3%。精密称取葛根素原料适量, 加入上述配比的 3'-羟基葛根素原料、染料木苷原料及大豆苷元原料, 同“2.1.4”项描述方法进行在 pH 7.4 缓冲液中溶解度考察。

以葛根黄酮组分中各成分比例为基准, 考察 2 种或 3 种成分与葛根素组合后葛根素溶解度的变化。研究发现, 当同时加入 15.08% 3'-羟基葛根素和

2%染料木苷后, 葛根素溶解度提高了 13.0%; 同时加入 15.08% 3'-羟基葛根素和 3%大豆苷元后, 葛根素溶解度提高了 8.7%; 同时加入 2%染料木苷和 3%大豆苷元 2 种成分后, 葛根素溶解度提高了 16.79%。此外, 当 3 种成分 (15.08% 3'-羟基葛根素、3%大豆苷元、2%染料木苷) 同时与葛根素组合时, 葛根素溶解度也提高了 18.60%, 见表 7。

2.2 肠吸收实验

2.2.1 溶液的配制

(1) 葛根素对照品储备液制备: 精密称取葛根

表 7 pH 7.4 缓冲液中加入不同比例多种成分后对葛根素溶解度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Effect of adding proportions of various components to the pH 7.4 buffer on the solubility of puerarin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

实验号	成分比例	溶解度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	变化率/%
1	葛根素	7 708.120 $\pm$ 133.920	0
2	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素+2%染料木苷	8 709.880 $\pm$ 88.570**	13.00 $\pm$ 1.22
3	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素+3%大豆苷元	8 378.780 $\pm$ 364.950*	8.70 $\pm$ 5.65
4	葛根素+3%大豆苷元+2%染料木苷	9 002.300 $\pm$ 69.210**	16.79 $\pm$ 1.33
5	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素+3%大豆苷元+2%染料木苷	9 143.480 $\pm$ 135.640**	18.62 $\pm$ 2.54

素对照品 10.15 mg, 适量溶出介质溶解并定容至 10 mL, 得质量浓度为 1.015 mg/mL 的对照品储备液。

(2) 葛根素原料药储备液制备: 取葛根素原料药 302.89 mg, 精密称定, 用适量甲醇溶解, 再用 K-R 液定容至 100 mL 量瓶, 摇匀, 即得质量浓度为 3.028 9 mg/mL 的原料药储备液。同法制成含大豆苷元 1.013 mg/mL、染料木苷 1.063 mg/mL、3'-羟基葛根素 1.060 mg/mL 的原料药储备液。

(3) Krebs-Ringer's 营养液 (简称 K-R 液) 的制备: 称取 NaCl 7.8 g, KCl 0.35 g, NaHCO₃ 1.37 g, NaH₂PO₄ 0.32 g, MgCl₂ 0.02 g, CaCl₂ 0.37 g, 葡萄糖 1.4 g, 加入超纯水定容至 1 L, 即得。经测定, K-R 液 pH 值为 7.4。

(4) 空白肠灌流液的配制: 取 K-R 液适量, 取禁食 16 h (不禁水) 的 SD 大鼠, 10%水合氯醛溶液麻醉, 手术剪在腹部开 3~4 cm 小口, 并从胃幽门下 1 cm 处开始小心分离出待考察的肠段, 取肠段约 10 cm, 于两端切小口, 插管结扎, 注意肠段小心放平并尽可能避免卷曲和扭结。用事先预热至 (37.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 的生理盐水缓慢的将肠道内容物冲洗干净, 再用空气将生理盐水排空。用等渗生理盐水浸湿的纱布覆盖以保持肠组织的生理活性, 并定时补滴生理盐水以维持, 于红外灯下使大鼠保持体温。试验时取一定质量浓度的含药肠灌流液 [预热至 (37.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$] 灌流, 将体积流量调至 0.2 mL/min, 预平衡 30 min 后, 进口处用已知质量的装有含药肠灌流液的小瓶进行灌流, 体积流量 0.2 mL/min, 在出口处用另一已知质量的小瓶收集流出液, 即得。

(5) 各含药灌流液的制备: ①葛根素灌流液的制备: 精密吸取葛根素原料药储备液 1 mL, 用 K-R 液稀释并定容至 100 mL, 得到质量浓度为 30.289 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灌流液。②葛根素+3'-羟基葛根素灌流液的制备: 精密吸取葛根素原料药储备液适量, 按照梯度比例 (2%、5%、10%、20%、30%) 加入 3'-羟

基葛根素原料药储备液, 用 K-R 液稀释并定容至 100 mL, 即得。③同法制成葛根素+大豆苷元灌流液、葛根素+染料木苷灌流液。

2.2.2 色谱条件 同“2.1.2”项。

2.2.3 方法学考察 实验建立了肠灌流液中葛根素含量测定方法, 专属性试验表明, 空白肠灌流液与各供试品溶液不会对葛根素测定产生干扰, 结果见图 2; 进行了线性范围考察, 结果表明葛根素在 6.34~203.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好; 精密度试验结果表明葛根素日内、日间精密度良好 (日内、日间精密度 RSD 值分别为 0.34%和 0.29%); 重复性、稳定性均符合规定; 回收率试验结果表明, 葛根素高、中、低质量浓度样品的平均回收率分别为 93.97%、90.92%、89.06%, 均符合规定。

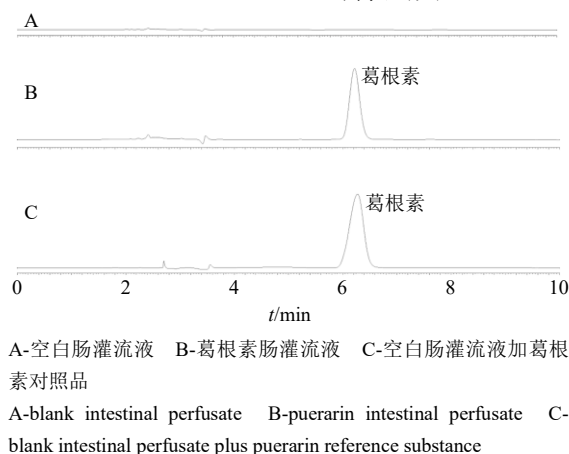


图 2 肠吸收实验专属性色谱图

Fig. 2 Specific chromatogram of intestinal absorption experiment

2.2.4 大鼠在体单向肠灌流试验步骤 有研究表明葛根素在十二指肠吸收最好^[11], 故实验选取十二指肠为考察肠段。取禁食 16 h (不禁水) 的 SD 大鼠, 质量浓度 10%水合氯醛溶液麻醉 (3.4 mL/kg), 沿腹中线打开腹腔, 小心分离出待考察的肠段, 取肠段约 10 cm, 于两端切口插管结扎, 插管后将肠段

小心放平, 尽可能避免卷曲和扭结。用预热至 37 °C 的生理盐水将肠道内容物冲洗干净, 在用空气将生理盐水排空。用等渗生理盐水覆盖以保持肠组织的生理活性, 于红外灯下使大鼠保持体温。实验时取一定质量浓度的含药肠灌流液(预热至 37 °C)灌流, 将体积流量调至 0.2 mL/min, 预平衡 30 min 后, 进口处用已知质量的装有含药肠灌流液的小瓶进行灌流, 体积流量 0.2 mL/min, 在出口处用另一已知质量的小瓶收集(每隔 15 min 同时迅速更换下一个含药肠灌流液小瓶和收集液小瓶), 称定质量, 计算灌入和收集的药液质量。分别从上述药液中各吸取 0.5 mL, 置于已知质量的小锥形瓶中, 称定质量, 求算药液密度。实验后, 测定肠段的长度, 小心摊放避免拉伸。取肠灌流液 1 mL 于 1.5 mL 离心管中, 离心 10 min (12 000 r/min), 取上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按照“2.1.2”项下的色谱条件进行检测, 记录葛根素峰面积, 计算各个时间段肠段灌流液样品中葛根素的含量。

2.2.5 数据分析 采用重量法对肠灌流液流入和流出的体积进行校正, 并计算表观渗透系数 (P_{app})、肠吸收速率 (K_a) 及肠吸收分数 (F_a) [11]。

$$V_{in} = m_{in} / \rho_{in}$$

$$V_{out} = m_{out} / \rho_{out}$$

$$P_{app} = -Q \cdot \ln(V_{out} C_{out} / V_{in} C_{in}) / 2\pi r L$$

$$K_a = (1 - V_{out} C_{out} / V_{in} C_{in}) Q / \pi r^2 L$$

$$F_a = 1 - V_{out} C_{out} / V_{in} C_{in}$$

m_{in} 和 m_{out} 分别为肠道进出口灌流液的质量 (g), ρ_{in} 和 ρ_{out} 分别为肠道进出口灌流液的密度 (g/mL), V_{in} 和 V_{out} 分别为肠段灌入的灌流液和收集液的体积 (mL); L 和 r 分别为灌流肠段的长度 (cm) 和横截面半径 (cm); Q 为肠道灌流液的体积流量 (0.2 mL/min); C_{in} 和 C_{out} 分别为灌流液和收集液的葛根素质量浓度 (g/mL)

2.2.6 数据统计 采用 SPSS 21.0 软件对各组间数据进行单因素方差分析 (ANOVA), 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 当 $P < 0.05$ 时判定具有显著性差异, $P < 0.01$ 时判定具有有极显著性差异。

2.2.7 固有比例下单体成分对葛根素渗透性的影响 考虑大豆苷在肠道会转化为大豆苷元, 故在肠吸收考察中, 以葛根黄酮类组分中各成分比例为基准, 考察葛根素灌流液中分别加入 15.08% 3'-羟基葛根素、2% 染料木苷和 3% 大豆苷元后葛根素渗透性的变化, 考查和计算的指标主要是与吸收特征相关的关键特征指标, 包括 P_{app} 、 K_a 、 F_a , 如表 8 所示。研究发现, 3'-羟基葛根素分别提高了葛根素的 P_{app} 、 K_a 、 F_a 至单体的 1.23、1.27、1.23 倍。然而, 染料木苷对葛根素的 P_{app} 基本无影响, 却降低了葛根素的 F_a , 仅将 K_a 提高了 1.10 倍。而 3% 大豆苷元对葛根素的 P_{app} 、 F_a 基本无影响, 仅提高了 K_a 1.21 倍。

表 8 加入不同比例单体成分后对葛根素肠吸收 (吸收参数) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 8 Effect of adding proportion of each single component on intestinal absorption (absorption parameter) of puerarin ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

实验号	成分比例	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-4} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
1	葛根素	1.266 ± 0.281	1.739 ± 0.430	3.27 ± 0.79
2	葛根素 + 15.08% 3'-羟基葛根素	1.606 ± 0.748	2.143 ± 1.093	4.03 ± 2.02
3	葛根素 + 2% 染料木苷	1.210 ± 0.609	1.905 ± 0.937	2.79 ± 1.41
4	葛根素 + 3% 大豆苷元	1.373 ± 0.170	2.098 ± 0.244	3.34 ± 0.17

2.2.8 不同梯度比例单体成分对葛根素渗透性的影响 考察组分内各主要成分按不同梯度比例 (2%、5%、10%、15%、20%、30%) 加入后对葛根素渗透性的影响。研究结果发现, 2% 3'-羟基葛根素略微降低了葛根素的 F_a , 对 P_{app} 和 K_a 基本无影响, 但随着 3'-羟基葛根素加入比例的增加, 葛根素的 P_{app} 、 K_a 和 F_a 呈现逐渐增加的趋势, 当加入比例为 5%、10%、20% 和 30% 时, P_{app} 分别为葛根素单体的 1.12、1.34、1.64、1.69 倍, K_a 为原来的 1.17、1.44、1.75、1.71 倍, F_a 则为 1.00、1.20、1.28、1.48 倍, 如表 9 所

示。其中, 加入 20% 的 3'-羟基葛根素后葛根素的 P_{app} 显著增加 ($P < 0.05$) 且 K_a 极显著增加 ($P < 0.01$); 30% 3'-羟基葛根素也显著增加了葛根素的 P_{app} ($P < 0.01$) 和 K_a ($P < 0.05$)。当加入大豆苷元的比例为 2%、5%、10%、20%、30% 时, P_{app} 分别提高为单体的 1.08、1.19、1.29、1.27、1.62 倍, K_a 分别是葛根素单体的 1.20、1.31、1.41、1.34、1.77 倍, F_a 分别是葛根素的 F_a 的 1.02、1.01、1.07、1.03、1.24 倍, 如表 10 所示, 其中 30% 大豆苷元极显著提高了葛根素的 P_{app} 和 K_a ($P < 0.01$), 显著提高了

F_a ($P<0.05$)。当按梯度比例加入染料木苷后, P_{app} 分别是葛根素单体的 0.96、1.14、1.26、1.27、1.30 倍, K_a 分别是葛根素单体的 1.1、1.34、1.35、1.49、1.40 倍, F_a 分别是原来的 0.85、1.01、1.13、1.07、1.17 倍, 见表 11。

表 9 不同梯度比例 3'-羟基葛根素对葛根素肠吸收 (吸收参数) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 9 Effect of gradient ratio 3'-hydroxypuerarin on intestinal absorption (absorption parameters) of puerarin ($\bar{x} \pm s, n=5$)

实验号	成分比例	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-4} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
1	葛根素	1.266±0.281	1.739±0.430	3.27±0.79
2	葛根素+2% 3'-羟基葛根素	1.242±0.083	1.835±0.363	2.90±0.40
3	葛根素+5% 3'-羟基葛根素	1.416±0.221	2.032±0.199	3.27±0.64
4	葛根素+10% 3'-羟基葛根素	1.692±0.407	2.502±0.785	3.94±0.41
5	葛根素+20% 3'-羟基葛根素	2.070±0.467*	3.042±0.650**	4.18±0.88
6	葛根素+30% 3'-羟基葛根素	2.139±0.755**	2.975±0.964**	4.83±1.13*

表 10 不同梯度比例大豆苷元对葛根素肠吸收 (吸收参数) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 10 Effect of gradient ratio daidzein on intestinal absorption (absorption parameters) of puerarin ($\bar{x} \pm s, n=5$)

实验号	成分比例	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-4} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
1	葛根素	1.266±0.281	1.739±0.430	3.27±0.79
2	葛根素+2%大豆苷元	1.363±0.170	2.088±0.243	3.34±0.17
3	葛根素+5%大豆苷元	1.510±0.256	2.276±0.422	3.31±0.58
4	葛根素+10%大豆苷元	1.635±0.319	2.458±0.667	3.49±0.63
5	葛根素+20%大豆苷元	1.559±0.257	2.344±0.482	3.37±0.44
6	葛根素+30%大豆苷元	2.051±0.608**	3.077±1.113**	4.05±0.64*

表 11 不同梯度比例染料木苷对葛根素肠吸收 (吸收参数) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 11 Effect of genistin with gradient ratio on intestinal absorption (absorption parameters) of puerarin ($\bar{x} \pm s, n=3$)

实验号	成分比例	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-4} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
1	葛根素	1.266±0.281	1.739±0.430	3.27±0.79
2	葛根素+2%染料木苷	1.210±0.609	1.905±0.937	2.79±1.41
3	葛根素+5%染料木苷	1.439±0.331	2.311±0.601	3.29±0.64
4	葛根素+10%染料木苷	1.590±0.184	2.349±0.408	3.71±0.89
5	葛根素+20%染料木苷	1.628±0.253	2.586±0.385	3.51±0.31
6	葛根素+30%染料木苷	1.642±0.171	2.441±0.359	3.88±0.69

基葛根素+3%大豆苷元+2%染料木苷 (即 2、3、4、5 组), 考察多成分组合对葛根素渗透性的影响。结果显示, 与葛根素组相比, 第 2、3、4、5 组均显著增加了葛根素的 P_{app} ($P<0.05$), 分别增加为葛根素单体的 2.17、1.77、1.88 和 2.20 倍; 更显著地增加了葛根素的 K_a ($P<0.05$), 分别增加了 2.27、1.94、2.05 和 2.36 倍; 2、3、4 组虽然对葛根素的 F_a 有所增加, 为葛根素单体的 1.71、1.48、1.71 倍, 但无显著差异, 仅第 5 组显著增加了葛根素的 F_a

2.2.9 多成分组合对葛根素渗透性的影响 以葛根黄酮组分中各成分比例为基准, 在葛根素灌流液中分别加入 2 成分及 3 成分比例即 15.08% 3'-羟基葛根素+2%染料木苷、15.08% 3'-羟基葛根素+3%大豆苷元、3%大豆苷元+2%染料木苷和 15.08% 3'-羟

($P<0.05$), 为葛根素单体的 F_a 的 2.13 倍。具体见表 12。

3 讨论

3.1 葛根异黄酮成分对葛根素溶解度的调节作用分析

单味中药葛根的黄酮组分中的 3'-羟基葛根素、染料木苷、大豆苷元、大豆苷都对葛根素的溶解度有着不同程度的影响。研究发现如果遵循组分内成分间的固有比例组合, 4 种单体成分均能增加葛根

表 12 加入多种成分比例后对葛根素肠吸收 (吸收参数) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 12 Effect of adding proportions of various ingredients on intestinal absorption (absorption parameters) of puerarin ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

实验号	成分比例	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-4} \text{ s}^{-1})$	$F_a/\%$
1	葛根素	1.266 ± 0.281	1.739 ± 0.430	3.27 ± 0.79
2	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素+2%染料木苷	$2.749 \pm 0.874^*$	$3.949 \pm 1.259^*$	5.59 ± 1.40
3	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素+3%大豆苷元	$2.238 \pm 0.612^*$	$3.380 \pm 1.490^*$	4.84 ± 1.26
4	葛根素+3%大豆苷元+2%染料木苷	$2.384 \pm 0.458^*$	$3.557 \pm 0.649^*$	5.58 ± 1.22
5	葛根素+15.08% 3'-羟基葛根素+3%大豆苷元+2%染料木苷	$2.790 \pm 0.630^*$	$4.104 \pm 0.914^{**}$	$6.95 \pm 2.65^*$

素的溶解度,尤其是 3'-羟基葛根素的促溶效果最佳,且按照组分结构组合的 2 种或 3 种成分环境对葛根素也产生促溶作用。

但当递进式考察各成分不同比例对葛根素的影响时,却发现随着大豆苷元投料比例上升,葛根素的溶解度反而下降,而另外 3 种对葛根素的促溶效果会随着投料比例增加而更显著。上述结果一定程度地说明了单味中药整体的重要性。考虑到葛根素 pK_{a1} 约为 7.4^[12],根据 Henderson-Hasselbalch 方程^[13],葛根素在 pH 7.4 缓冲液中,其解离型与未解离型的比例约为 1:1,通常葛根素在弱酸条件下以疏水分子形式为主,而在弱碱性条件下则更倾向以亲水分子形式存在。据此推测产生上述结果的原因是与各成分调节了葛根素可能与解离型葛根素产生某种离子效应而调节了葛根素的解离从而改变了葛根素溶解度,或通过调节葛根素所处环境的酸碱度并改变其在溶液中的分子形式,且这种调节作用与环境分子的投入比例及种类有关系,具体机制需要开展深入研究。

3.2 葛根异黄酮成分对葛根素渗透性的调节作用分析

研究结果表明葛根素的肠渗透性较低, P_{app} 仅为 $1.266 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$,这与文献研究结果^[13]一致。发现单一成分加入到葛根素灌流液中,仅 3'-羟基葛根素有促进葛根素十二指肠吸收的效果,而大豆苷元与染料木苷对葛根素吸收基本无影响,仅当投入比例增加时才表现出对葛根素的促吸收效果。当加入 2 种成分或 3 种成分时,发现 2 种成分或 3 种成分对葛根素的肠渗透性具有“叠加效应”,从结果看叠加的促渗透效果更好,具有显著差异,此结果将对后期课题组设计葛根多元释药提供依据。有文献表明葛根素吸收机制为被动转运,但也有学者^[14-15]认为葛根素的吸收机制并不是单一的被动转运。本研

究也表明在组分环境下,葛根素的 K_a 与 F_a 变化很大,尤其当同时加入 3 种成分时, K_a 在 $1.739 \times 10^{-4} \sim 4.104 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 变化, F_a 在 3.27%~6.95% 变化,推测多成分环境中的某些成分很可能对外排蛋白或相关酶有影响,使得等浓度葛根素的肠吸收过程中 K_a 与 F_a 变化很大。

3.3 葛根异黄酮组分“自洽性”探讨

综合上述葛根素溶解度和肠吸收的研究结果,发现若遵循葛根异黄酮组分中各成分的固有比例,葛根异黄酮中其他成分对葛根素的溶解度和渗透性都有一定程度的促进作用,可见,葛根自有成分对主要活性成分葛根素的理化性质存在着正调节作用。但是葛根黄酮类组分中的成分较多,本研究仅涉及葛根黄酮成分中 3 种黄酮类成分对葛根素溶解度和肠吸收的影响,未探讨其他黄酮类成分的影响;再者,本研究只限于黄酮类组分内部,并未探讨黄酮类组分以外的组分比如多糖类组分对葛根素溶解及肠吸收的影响,也未探讨不同组分间的相互作用及影响规律。此外,课题组认为,中药自有成分间的“自洽性”可能同时包括正、负调节作用,如王娟等^[16]、余丹等^[17]、宋敏等^[18]及 Chang 等^[19]课题组的研究,丹参水溶液中的其他成分能促进丹参素的分布和消除,促进丹酚酸 B 的吸收并降低其在体内的消除速率,而丹酚酸 B 又能显著增加丹参素在大鼠血浆中的暴露程度。因此,充分研究中药自有成分间的调节作用并阐释中药成分间的“自洽性”对进一步开发中药有着不可估量的作用。

根据“自洽性”可从葛根自身成分/组分的溶解度及渗透性等维度展开研究,建立多成分/组分体系可能是改善葛根素生物利用度的途径之一,以提高葛根素生物利用度为目标针对性地对不同成分/组分进行释药单元设计,从而开发多元复方释药体系,有助于阐释中药整体观的科学内涵。

4 展望

中药自有成分间的“自洽性”既符合生态合理性,也预示着其应用于现代制剂开发的无限可能性。目前解决中药单体生物利用度低的问题,常用的制剂技术主要是通过结构修饰或现代药剂学手段改善葛根素单体的溶解性(水溶性或脂溶性)以提高口服生物利用度^[20-21]。

本研究给现代中药制剂技术提供了新的研究思路:从调节中药单体自身物理特性的视角出发,可充分考虑单体所处多成分环境中其他成分对其溶解度和渗透性的影响,即放大多成分的协同作用或合理运用成分间的抑制作用,以提高药物生物利用度为目标针对性地对不同成分/组分进行释药单元设计,从而开发多元复方释药体系;从中药单体新型递药系统设计的角度切入,可针对体系的弱点问题,如纳米递药体系载药稳定性差或药物空间分布不合理等,从中药自有成分中筛选合适成分设计为共载体体系以优化递送体系性质,并达到同时实现药效协同发挥的目标;此外,还可从体内视角深挖,充分利用“自洽性”去调节改善单体成分的吸收、分布、代谢、排泄等体内过程等。综上研究思路都将既有助于解决中药现代制剂研发等实际问题,也有利于阐释中药整体观的科学内涵。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘丹, 郁丹红, 孙娥, 等. 中药组分与组分生物药剂学分类系统构建 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(19): 2997-3000.
- [2] 刘洋, 翟华强, 赵保胜, 等. 多成分药物代谢学术思想在中医临床药学研究中的应用分析 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1335-1338.
- [3] Zhao Y R, Du L D, Zhang L, et al. Puerarin [A] // *Natural Small Molecule Drugs from Plants* [M]. Singapore: Springer Singapore, 2018: 121-126.
- [4] Li H W, Dong L, Liu Y, et al. Biopharmaceutics classification of puerarin and comparison of perfusion approaches in rats [J]. *Int J Pharm*, 2014, 466(1/2): 133-138.
- [5] 朱卫丰, 邹斌, 管咏梅, 等. 葛根质量标志物(Q-marker)探讨分析 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(4): 775-777.
- [6] 王睿锐, 沈琦. 黄豆苷元、染料木素对葛根素小肠吸收影响 [J]. 中成药, 2011, 33(8): 1323-1326.

- [7] 范昕. 葛根异黄酮在实验性大鼠小肠吸收的药动力学研究 [J]. 陕西中医, 2012, 33(6): 750-752.
- [8] 赵洁, 苏畅, 温德广, 等. 葛根素及葛根提取物在大鼠体内的药动力学研究 [J]. 中国药房, 2016, 27(10): 1311-1314.
- [9] 侯成波, 汪国鹏, 张强, 等. 中药生物药剂学分类系统中多成分环境对葛根素溶解度的影响 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(23): 4499-4504.
- [10] 尤春雪, 张振秋, 李峰, 等. HPLC 波长切换技术对葛根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 616-621.
- [11] 林文慧, 朱春燕, 陈卫, 等. 葛根黄酮在大鼠肠道的吸收动力学研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2): 164-168.
- [12] 刘西京, 杨大坚, 罗杰英, 等. 紫外分光光度法测定葛根素的解离常数 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(11): 2206-2207.
- [13] Po H N, Senozan N M. The Henderson-Hasselbalch equation: Its history and limitations [J]. *J Chem Educ*, 2001, 78(11): 1499.
- [14] Liao Z G, Liang X L, Zhu J Y, et al. Transport properties of puerarin and effect of extract of *Radix Angelicae Dahuricae* on puerarin intestinal absorption using in situ and in vitro models [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(9): 1288-1294.
- [15] Li H W, Dong L, Liu Y, et al. Comparison of two approaches of intestinal absorption by puerarin [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2014, 70(1): 6-11.
- [16] 王娟, 马张庆, 汪五三, 等. 丹参素钠及丹参注射液在大鼠体内的药动力学比较 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(22): 2943-2945.
- [17] 余丹, 柴建国, 曹彦光, 等. 丹参注射液中丹酚酸 B 对丹参素药代动力学影响 [J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(3): 258-262.
- [18] 宋敏, 杭太俊, 张正行. 丹参提取物有效成分在大鼠体内的药代动力学和相互影响研究 [J]. 药学学报, 2007, 42(3): 301-307.
- [19] Chang B B, Zhang L, Cao W W, et al. Pharmacokinetic interactions induced by content variation of major water-soluble components of Danshen preparation in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(5): 638-646.
- [20] 吴文婷, 邹斌, 李文栋, 等. 葛根素口服给药的药剂学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19): 4134-4141.
- [21] 乔宏志, 狄留庆, 平其能, 等. 结构中药学: 中药药效物质基础研究的新领域 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(10): 2443-2448.

[责任编辑 郑礼胜]