

羊脂油促进淫羊藿总黄酮吸收转运的研究

李杰^{1,2}, 孙娥¹, 谭晓斌¹, 贾晓斌^{1,2*}

1. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013

摘要: **目的** 研究炮制辅料羊脂油促进淫羊藿总黄酮肠吸收转运机制。**方法** 采用大鼠在体单向肠灌注模型和 Caco-2 细胞单层模型研究炮制辅料羊脂油对淫羊藿总黄酮自组装形成胶束后肠吸收的影响。**结果** 大鼠在体单向肠灌注模型中, 淫羊藿总黄酮中淫羊藿苷成分在 4 个肠段的吸收具有差异性, 其中在空肠段最高。加入羊脂油自组装形成胶束后, 在十二指肠和空肠段的渗透系数显著增加。Caco-2 细胞单层模型中, 淫羊藿总黄酮中的淫羊藿苷成分吸收渗透系数较小, 加入羊脂油自组装形成胶束后吸收渗透系数显著增加, 外排比率从 4.72 下降到了 2.31。**结论** 淫羊藿总黄酮肠吸收较差, 加入羊脂油后可自组装形成胶束, 其在肠道的吸收增加。

关键词: 淫羊藿总黄酮; 淫羊藿苷; 羊脂油; 自组装胶束; 大鼠在体单向肠灌注模型; Caco-2 细胞单层模型; 渗透系数

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)16-2439-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.16.017

Promotion of suet oil to absorption and transportation of total flavonoids from *Epimedii Folium*

LI Jie^{1,2}, SUN E¹, TAN Xiao-bin¹, JIA Xiao-bin^{1,2}

1. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. College of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Abstract: **Objective** To study the promotion mechanism of suet oil to the intestinal absorption of the total flavonoids from *Epimedii Folium* (EF). **Methods** The *in vivo* intestinal perfusion model and Caco-2 cell monolayer model of rats were used to study the influence of processing excipient suet oil in self-assembled micelles on the intestinal absorption of total flavones from EF. **Results** In the *in vivo* intestinal perfusion model of rats, there were differences of absorption of icariin in the total flavonoids from EF in the four segments of the intestines. After the suet oil was added and self-assembled micelles were formed, the permeabilities of icariin in the total flavonoids from EF were increased significantly in duodenum and jejunum segments. In Caco-2 cell monolayer model of rats, the absorptive permeability coefficients were small for icariin in the total flavonoids from EF, after the suet oil was added and the self-assembled micelles were formed, the absorptive permeability coefficients were increased significantly, the efflux ratios were decreased from 4.72 to 2.31. **Conclusion** The total flavonoids from EF have a bad intestinal absorption, after the suet oil added and the self-assembled micelles formed, the intestinal absorption of the total flavonoids from EF could be improved.

Key words: total flavonoids from *Epimedii Folium*; icariin; suet oil; self-assembled micelles; *in vivo* intestinal perfusion model of rats; Caco-2 cell monolayer model; permeability coefficients

淫羊藿 *Epimedii Folium* 为小檗科(Berberidaceae)淫羊藿属 *Epimedium* L. 植物,其主要成分为黄酮类化合物^[1]。文献报道^[2]淫羊藿中的黄酮类成分对骨代谢、心脑血管系统、免疫系统等方面具有广泛的

药理作用。但由于淫羊藿总黄酮溶解度较差,导致口服吸收差,生物利用度较低,限制了其在临床的应用。传统炮制理论认为,淫羊藿经羊脂油炙后,可增强温肾助阳的作用^[3-4]。

收稿日期: 2014-12-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30572372, 30973944, 81274088)

作者简介: 李杰,男,硕士研究生。E-mail: lijiejstem@163.com

*通信作者 贾晓斌,研究员,博士生导师。Tel: (025)85608672 E-mail: jxiaobin2012@126.com

本课题组前期研究发现,羊脂油本身含有大量脂肪酸类成分,这些脂肪酸类成分与人体内的胆汁酸或盐可自组装形成胶束作为药物载体,促进药物的吸收^[5-6]。因此,本课题组提出炙淫羊藿中炮制辅料羊脂油的作用机制假说:炙淫羊藿口服进入体内,羊脂油促进了胶束的自组装形成,增加了淫羊藿总黄酮的溶解度,提高了总黄酮的肠吸收,从而发挥了其增效作用^[7-9]。前期实验证实,在模拟人体内环境条件下,淫羊藿总黄酮可在羊脂油的作用下自组装形成胶束^[10]。本研究结合这一研究发现,采用目前在国内外已广泛使用的大鼠在体肠灌流模型和Caco-2细胞单层模型,研究淫羊藿总黄酮在羊脂油作用下自组装形成胶束后的肠渗透性,初步阐明羊脂油促进淫羊藿总黄酮肠吸收转运的机制。

1 材料

1.1 仪器

Agilent1260系列高效液相色谱仪,四元泵,DAD检测器(美国Agilent公司);恒流泵PHD2000 Infuse/withdraw pump(美国Harvard Apparatus Inc公司);Anke TGL-16G离心机(上海安亭科学仪器厂);AB135-S型1/10万天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);pH计(梅特勒-托利多仪器有限公司);二氧化碳培养箱(德国Hearous公司);Millicell-ERS跨膜电阻仪(美国Millipore公司);Transwell培养板(丹麦NUNC公司);XDS-1B倒置显微镜(重庆光学仪器厂);Waters AcquityTM超高压液相色谱仪(美国Waters公司);高速冷冻离心机(美国Beckman公司);Milli-Q纯水机(美国Millipore公司)。

1.2 试剂

淫羊藿总黄酮(西安小草植物科技有限公司,批号20130628,总黄酮质量分数80%,其中含淫羊藿苷42%);淫羊藿苷(西安小草植物科技有限公司,批号xc20130628,质量分数>98%);羊脂油(采自青海绵羊油,市售);谷氨酰胺、胰蛋白酶(Sigma);睾丸酮(上海源叶生物科技有限公司,批号1401160823);乌拉坦(国药集团化学试剂有限公司,批号20130615);脱氧胆酸钠(国药集团化学试剂有限公司,批号20131006);胎牛血清(FBS, Equitech-Bio, INC);非必需氨基酸(JRH);DMEM培养基(Hyclone);HEPES(北京拜尔迪生物公司);MgSO₄、Na₂HPO₄、NaCl、NaHCO₃、KCl、KH₂PO₄、D-葡萄糖、CaCl₂·2H₂O(南京化学试剂有限公司);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.3 动物与细胞

SD大鼠,雄性,体质量约为300 g,中国人民解放军南京军区医学动物实验中心,合格证号SCXK(军)2012-0014。Caco-2 TC7细胞株由法国MoniquéRousset博士馈赠。

2 方法

2.1 溶液的配制

内标溶液的配制:精密称取睾丸酮14.14 mg,加乙腈溶解定容至5 mL,即配成10 mmol/L的储备液。精密吸取睾丸酮储备液0.1 mL,加入9.4 mL乙腈与0.6 mL冰醋酸,混合均匀,即为100 μmol/L内标溶液,备用。

HBSS溶液的配制:精密称取HEPES 5.96 g、MgSO₄ 0.1 g、NaCl 8 g、NaHCO₃ 0.37 g、D-葡萄糖 4.5 g、KCl 0.4 g、KH₂PO₄ 0.06 g、CaCl₂·2H₂O 0.185 g、Na₂HPO₄ 0.05 g,加水稀释至1 000 mL,用5 mol/L NaOH调节pH值至7.4。

淫羊藿总黄酮储备液的配制:精密称取淫羊藿总黄酮5.10 mg置10 mL量瓶中,先加入少量二甲基亚砷使其溶解,再加入无水乙醇至刻度,混匀,配制成质量浓度为510 μg/mL的淫羊藿总黄酮储备液,备用。

淫羊藿总黄酮溶液的配制:精密吸取上述淫羊藿总黄酮储备液2.5 mL置50 mL量瓶中,用37℃预热的HBSS(pH 7.4)溶液稀释定容,配制成相当于淫羊藿苷浓度为20 μmol/L的淫羊藿总黄酮溶液。

淫羊藿总黄酮自组装胶束溶液的配制:精密称取脱氧胆酸钠6.38 mg溶解于适量HBSS(pH 7.4)溶液中,缓慢搅拌30 min使脱氧胆酸钠充分溶解。精密称取2.55 mg羊脂油与上述淫羊藿总黄酮储备液2.5 mL溶解于10 mL无水乙醇中,将该乙醇溶液缓慢注入脱氧胆酸钠溶液中,加HBSS(pH 7.4)溶液定容至50 mL,均匀持续搅拌2.5 h,即得相当于淫羊藿苷浓度为20 μmol/L的淫羊藿总黄酮自组装胶束溶液。

2.2 大鼠在体肠灌流模型研究羊脂油促进淫羊藿总黄酮吸收转运

2.2.1 大鼠在体肠灌流模型制备及灌流实验^[11]
实验前将大鼠禁食过夜,随机分为淫羊藿总黄酮和淫羊藿总黄酮自组装胶束组,每组4只。im 50%乌拉坦溶液(2.8 mL/kg)麻醉大鼠,在腹腔切开4 cm小口,分别分离4段肠管(十二指肠、空肠、回肠、结肠),分别插入导管,每段约10 cm。插管后将小肠部分小心放回腹腔,避免卷曲和打结。切口用等渗生理盐水浸润的纱布覆盖。手术时要注意进口管

和出口管保持在同一高度,以免重力影响下溢流。在 37 ℃ 循环水浴中保持灌注温度恒定,用灌注泵分别将空白肠灌注液(HBSS 溶液)和含有药物的溶液同时灌入 4 段肠段,泵体积流量为 0.2 mL/min。30 min 达到吸收平衡后,每隔 30 min 收集 1 份灌注液,共收集 4 份。取灌注液样品 400 μL,加 100 μL 内标溶液,混合均匀,15 000 r/min 离心 15 min,取上清液 100 μL,供 HPLC 分析。

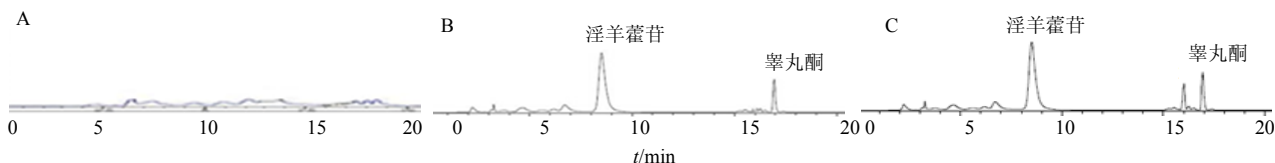


图 1 空白肠灌注液 (A)、淫羊藿苷对照品+内标溶液 (B) 和淫羊藿总黄酮肠灌注液 (C) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of blank intestinal perfusion fluid (A), icariin reference substance + inter standard solution (B), and intestinal perfusion fluid of total flavonoids from EF (C)

2.2.3 数据处理^[11] 按下式计算药物的肠壁渗透系数 (P_{eff}^*)。用设计的 Excel 表对结果进行计算,经 SPSS 10.0 统计软件进行统计。

$$P_{\text{eff}}^* = (1 - C_m/C_0)/4G_z$$

C_0 和 C_m 分别为输入和输出质量浓度, G_z 值为对体积流量、肠段长度等因素进行校正的测量因素

2.3 Caco-2 细胞模型研究羊脂油促进淫羊藿总黄酮吸收转运

2.3.1 Caco-2 细胞单层模型的建立^[12] Caco-2 细胞培养于 DMEM 培养液(含 10% FBS、1% 非必需氨基酸、1% 谷氨酰胺、青霉素-链霉素双抗液)中,于 37 ℃、5% CO_2 条件培养箱中培养,隔天换培养液,每 5~7 天用胰蛋白酶消化传代。将细胞混悬液种植于 Transwell 培养板上的经鼠尾胶原涂布的多聚碳酸酯膜中,经过 21 d 左右细胞分化形成。实验前测定各孔跨膜电阻值以确定细胞单层是否完整,各孔跨膜电阻值大于 500 Ω/cm^2 ,方可用于实验。

2.3.2 淫羊藿总黄酮及其自组装胶束跨膜转运实验 实验前用 37 ℃ 预热的 pH 7.4 HBSS 溶液将细胞单层洗涤 3 次。最后 1 次加入预热的 HBSS 溶液后,将细胞单层置摇床中孵育 1 h,然后吸去 HBSS 溶液。药物从细胞绒毛面(AP)侧到基底面(BL)侧的转运:取药物溶液 2.5 mL 加到 AP 侧作为供给池,BL 侧加入 pH 7.4 HBSS 溶液 2.5 mL 作为接收池。药物从 BL 侧到 AP 侧的转运:取药物溶液 2.5 mL 加到 BL 侧作为供给池,同时在 AP 侧加入 2.5 mL pH 7.4 HBSS 溶液作为接收池。将加好药物溶液

2.2.2 HPLC 分析 以淫羊藿总黄酮中的淫羊藿苷为检测成分,对样品进行分析。色谱条件:Phenomenex- C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),体积流量 1 mL/min,检测波长 270 nm,流动相为乙腈(A)-水(B);梯度洗脱程序:0~11 min, 30% A; 11~13 min, 30%~70% A; 13~19 min, 70%~80% A; 19~22 min, 80%~100% A;柱温 30 ℃,进样量 100 μL。色谱图见图 1。

和 HBSS 溶液的 Transwell 培养板置于转速为 55 r/min 的 37 ℃ 恒温摇床中,分别于 0、1、2、3、4 h 时吸取供给池和接收池溶液 400 μL,同时补足相应的溶液。实验平行 3 次。

2.3.3 样品处理 向收集的 400 μL 样品中加入 100 μL 鞣丸酮内标溶液,15 000 r/min 离心 15 min,取上清液 4 μL 供 UPLC 分析。

2.3.4 UPLC 分析样品 同样以淫羊藿总黄酮中的淫羊藿苷为检测成分,对样品进行分析。色谱条件:Acquity UPLC™ BEH C_{18} 柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-超纯水(B),梯度洗脱程序:0~0.5 min, 25% A; 0.5~1.0 min, 25%~60% A; 1.0~2.5 min, 60%~80% A; 2.5~3.0 min, 80%~25% A;体积流量 0.4 mL/min,检测波长 270 nm;进样量 4 μL。色谱图见图 2。

2.3.5 数据处理^[13] 药物透过 Caco-2 细胞单层的表观渗透系数(P_{app})为评价通透性的指标, P_{app} 的值越大,通透性越高。采用 t 检验对数据进行比较研究,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

$$P_{\text{app}} = (dQ/dt)/SC$$

dQ/dt 为接收池药物出现的速率, S 为膜面积(4.2 cm^2), C 为药物的初始浓度

3 结果

3.1 大鼠肠灌注模型药物各肠段吸收结果

实验结果表明,淫羊藿总黄酮以及加入羊脂油自组装形成胶束后,均在空肠段的 P_{eff}^* 最高,而在回肠段和结肠段 P_{eff}^* 较低。各肠段 P_{eff}^* 值见表 1。

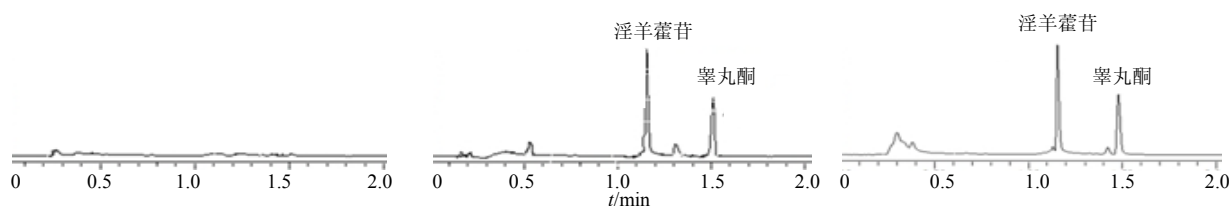


图 2 空白细胞培养液 (A), 淫羊藿苷对照品+睾酮 (B) 和淫羊藿总黄酮样品透过 Caco-2 细胞 (4 h) 样品溶液 (C) UPLC 色谱图
Fig. 2 HPLC of blank cell culture fluid (A), icariin reference substance + testosterone (B), and sample solution of total flavonoids from EF after passing through Caco-2 cell monolayers (4 h, C)

表 1 淫羊藿总黄酮和淫羊藿总黄酮自组装胶束在不同肠段吸收的 P_{eff}^* ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 1 Apparent permeability coefficients for absorption of total flavonoids from EF and self-assembled micelles of total flavonoids from EF in different intestinal segments ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

样品	P_{eff}^*			
	十二指肠	空肠	回肠	结肠
淫羊藿总黄酮	2.285 ± 0.311	2.765 ± 0.356	1.611 ± 0.225	0.176 ± 0.074
淫羊藿总黄酮自组装胶束	$3.164 \pm 0.211^*$	$3.550 \pm 0.250^*$	1.861 ± 0.244	0.274 ± 0.039

与淫羊藿总黄酮组比较: $^*P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs total flavonoids from EF group

统计结果表明, 加入羊脂油自组装形成胶束后, 淫羊藿总黄酮中的淫羊藿苷成分在十二指肠、空肠段的 P_{eff}^* 与不加羊脂油组相比显著增加 ($P < 0.05$)。实验结果初步说明在羊脂油作用下, 淫羊藿总黄酮肠吸收有所增加。

3.2 Caco-2 细胞模型研究药物吸收转运结果

以淫羊藿总黄酮中的淫羊藿苷为检测指标, 运用 UPLC 分析药物在 Caco-2 细胞模型中的吸收转运。结果表明, 浓度相当于 $20 \mu\text{mol/L}$ 淫羊藿苷的淫羊藿总黄酮溶液 AP 侧到 BL 侧的 P_{app} 为 $0.49 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$, BL 侧到 AP 侧的 P_{app} 为 $2.29 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ 。加入羊脂油自组装形成胶束后, 淫羊藿总黄酮从 AP 侧到 BL 侧的 P_{app} 为 $1.05 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$, BL 侧到 AP 侧的 P_{app} 为 $2.42 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ 。在 4 h 内, 淫羊藿苷从 AP 侧到 BL 侧的转运量和从 BL 侧到 AP 侧的转运量均随时间的延长而增加。 P_{app} 计算结果见表 2, 双向转运量随时间的变化情况见图 3。统计结果表明加入羊脂油后, 淫羊藿总黄酮自组装形成胶束后, P_{app} 显著升高 ($P < 0.001$)。AP 侧、BL 侧跨膜转运量均增加, 但外排比率 [$P_{\text{app}}(\text{BL-AP})/P_{\text{app}}(\text{AP-BL})$] 从 4.72 下降到 2.31。表明加入羊脂油, 淫羊藿总黄酮自组装形成胶束后, 吸收增加。

4 讨论

羊脂油是一种常用的中药炮制辅料, 味甘、性温, 具有补肾助阳、润燥、祛风解毒之功效。传统

表 2 淫羊藿总黄酮及淫羊藿总黄酮自组装胶束的 P_{app} 与外排比率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Permeability coefficients and efflux ratios of total flavonoids from EF and self-assembled micelles of total flavonoids from EF ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-6} \text{ cm/s})$		$P_{\text{app}}(\text{BL-AP})/$ $P_{\text{app}}(\text{AP-BL})$
	AP-BL	BL-AP	
淫羊藿总黄酮	0.49 ± 0.03	2.29 ± 0.10	4.72 ± 0.39
淫羊藿总黄酮自组装胶束	$1.05 \pm 0.01^{***}$	$2.42 \pm 0.09^*$	$2.31 \pm 0.08^{***}$

与淫羊藿总黄酮组比较: $^*P < 0.05$ $^{***}P < 0.001$

$^*P < 0.05$ $^{***}P < 0.001$ vs total flavonoids from EF group

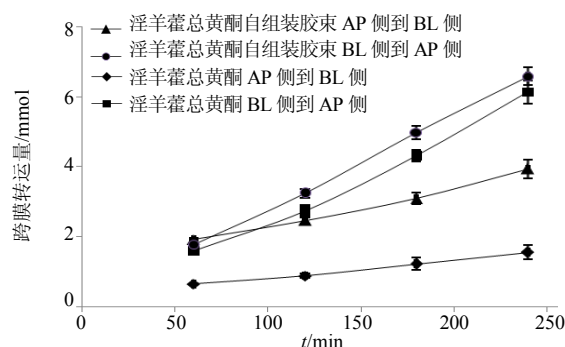


图 3 淫羊藿总黄酮和淫羊藿总黄酮自组装胶束 1~4 h 跨膜转运量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Membrane transport capacity of total flavonoids from EF and self-assembled micelles of total flavonoids from EF for 1—4 h ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

炮制理论认为,淫羊藿经羊脂油制后可增强温肾助阳的作用。本课题组前期研究发现淫羊藿油炙品与生品相比,淫羊藿中的黄酮类成分生物利用度显著增加,而炮制辅料羊脂油本身含有大量脂肪酸类的成分,通过模拟人体内环境发现,加入羊脂油后,淫羊藿总黄酮可自组装形成胶束,这可能是促进淫羊藿活性黄酮类成分温肾助阳功效增加的原因。因此,本研究采用大鼠在体单向肠灌流模型和Caco-2细胞单层模型研究淫羊藿总黄酮在加入羊脂油自组装形成胶束后的肠渗透性,初步解释羊脂油作为炮制辅料促进淫羊藿黄酮类成分的吸收机制。

小肠是药物在人体内的主要吸收部位。研究发现^[14],药物在大鼠体内的吸收与药物在人体内的吸收具有高度的相似性,因此可用大鼠代替人体进行药物体内吸收方面的研究。另一种常用研究药物吸收的模型为Caco-2细胞单层模型。Caco-2细胞系来源于人的直肠癌,其结构和生化作用类似于人小肠上皮细胞,含有与小肠刷状上皮相关的酶系^[15]。目前,大鼠在体肠灌流模型和Caco-2细胞单层模型作为研究药物小肠吸收模型已在国内外广泛应用于药物分子肠吸收的研究。此2种模型研究药物在人体内的吸收结果可靠,对临床应用具有实际作用。

本实验借助于该2种模型分别研究了淫羊藿总黄酮和淫羊藿总黄酮自组装胶束在大鼠各肠段的吸收和在Caco-2细胞单层的吸收,并对结果进行分析比较。大鼠在体肠灌流模型研究发现,淫羊藿总黄酮中加入羊脂油自组装形成胶束后其中的淫羊藿苷在十二指肠和空肠段的 P_{eff}^* 值与原形药物相比显著增加($P<0.05$),而回肠和结肠段则无显著性差异。Caco-2细胞单层模型研究发现,同等浓度的淫羊藿总黄酮在加入羊脂油自组装形成胶束后, P_{app} 显著增加($P<0.05$),AP侧跨膜转运量增加,外排比率下降。初步证实在加入羊脂油后,淫羊藿总黄酮可自组装形成胶束,改善了淫羊藿总黄酮的渗透系数,促进了淫羊藿总黄酮的肠转运吸收。研究发现许多非离子表面活性剂可以促进胶束的形成并能进一步抑制药物的外排作用^[16]。另有研究^[17]指出有的非离子表面活性剂能够减少ATP的水解,从而阻断了药物的外排作用。羊脂油中含有大量的长链脂肪酸类成分,具有一定的表面活性,因此,加入羊脂油促进了淫羊藿总黄酮自组装胶束的形成,促进了药物

的肠吸收转运,抑制了药物外排,从而起到了增效作用。

参考文献

- [1] Mizuno M, Iinuma M, Tanaka T, *et al.* Flavonoid glycosides in *Epimedium* species [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(9): 3487-3490.
- [2] 黄秀兰, 周亚伟, 王伟. 淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展 [J]. *中成药*, 2005, 27(6): 719-721.
- [3] 陈玲玲, 贾晓斌, 贾东升. 淫羊藿炮制机制研究进展 [J]. *中草药*, 2010, 41(12): 2108-2111.
- [4] 叶定江, 张世臣. 中药炮制学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.
- [5] van Hasselt P M, Janssens G E P J, Rijcken C J F, *et al.* Influence of bile on the oral bioavailability of vitamin K-loaded polymeric micelles [J]. *J Controlled Release*, 2009, 133(3): 161-168.
- [6] Jiang L, Wang K, Deng M, *et al.* Bile salt-induced vesicle-to-micelle transition in cationic surfactant systems: steric and electrostatic interactions [J]. *Langmuir*, 2008, 24(9): 4600-4606.
- [7] 孙娥, 韦英杰, 张振海, 等. 基于黄酮成分吸收代谢的中药炙淫羊藿炮制机理研究 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(3): 383-390.
- [8] 孙娥, 张振海, 崔莉, 等. 基于体内自组装胶束形成机制的羊脂油炙淫羊藿增效机制研究思路与探讨 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(3): 378-382.
- [9] Cui L, Sun E, Zhang Z H, *et al.* Enhancement of *Epimedium* fried with suet oil based on *in vivo* formation of self-assembled flavonoid compound nanomicelles [J]. *Molecules*, 2012, 17(11): 12984-12996.
- [10] 李杰, 孙娥, 张振海, 等. 羊脂油对淫羊藿活性黄酮自组装胶束模拟形成的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(17): 3278-3282.
- [11] Chen J, Lin H M, Hu M. Metabolism of flavonoid via enteric recycling: Role of intestinal disposition [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2003, 304(3): 1228-1235.
- [12] Hu M, Chen J, Tran D, *et al.* The Caco-2 cell monolayers as an intestinal metabolism model: metabolism of dipeptide Phe Pro [J]. *Drug Target*, 1994, 29(1): 79-89.
- [13] Artursson P, Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 175(3): 880-885.
- [14] Chen Y, Zhao Y H, Jia X B, *et al.* Intestinal absorption mechanisms of prenylated flavonoids present in the heat-processed *Epimedium koreanum* Nakai [J]. *Pharm*

- Res*, 2008, 25(9): 2190-2199.
- [15] Hídalgo I J, Raub T J, Borchardt R T. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 736-749.
- [16] Lo Y L. Relationships between the hydrophilic-lipophilic balance values of pharmaceutical excipients and their multidrug resistance modulating effect in Caco-2 cells and rat intestines [J]. *J Controlled Release*, 2003, 90(1): 37-48.
- [17] Legen I, Kracun M, Salobir M, *et al.* The evaluation of some pharmaceutically acceptable excipients as permeation enhancers for amoxicillin [J]. *Int J Pharm*, 2006, 308(1/2): 84-89.