

• 综 述 •

药物肠道吸收研究方法

祝诚诚¹, 何 新^{1,2,3*}

1 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193;

2 教育部方剂学重点实验室, 天津 300193;

3 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193

摘 要 药物在肠道内的吸收程度和吸收特征是影响口服药物生物利用度的重要因素。肠道吸收研究可以预测影响药物在肠道吸收的机制与因素, 研究方法主要包括体内法 (*in vivo*)、在体法 (*in situ*)、体外法 (*in vitro*) 等。就目前药物小肠吸收的研究方法及其特点进行综述。

关键词 肠吸收; 在体肠灌注法; 外翻肠囊法; Ussing chamber; 细胞培养模型法; 药物溶出/吸收动态仿生系统法 (DDASS)
中图分类号: R969.1 **文献标志码**: A **文章编号**: 1674-6376 (2010) 03-0222-06

Methodology study of drug intestinal absorption

ZHU Cheng-cheng¹, HE Xin^{1,2,3*}

1 College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2 Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medical Formulae, Ministry of Education, (Tianjin University of Traditional Chinese Medicine) Tianjin 300193, China;

3 Tianjin Key Laboratory of TCM Chemistry and Analysis, Tianjin 300193, China

Abstract The degree and character of intestinal tract absorption is an important factor that affects bioavailability of oral drugs. The absorption study of intestinal tract, including *in vivo*, *in situ*, *in vitro*, and so on, can predict mechanisms and factors that affect drug absorption in intestine. In this paper, the current methods of drug intestinal absorption and their characteristics are reviewed.

Key words intestinal absorption; intestinal perfusion; everted gut sacs; Ussing chamber; cell models; drug dissolution/absorption simulating system (DDASS)

经口给药是最常用的临床给药途径之一。小肠是药物吸收的主要部位, 药物经口吸收的程度与速度主要取决于肠内酶及其细胞对药物的代谢和屏障作用。因此, 获得药物在肠道的吸收动力学、有效吸收部位、吸收机制、影响吸收的因素等信息, 对新药设计、剂型改进以及降低新药研发投资的风险具有重要意义。近年来, 肠吸收模型的广泛应用对合理确定临床给药方案及各种制剂处方设计发挥了积极作用。肠道吸收的实验方法主要包括体内法 (*in vivo*)、在体法 (*in situ*)、体外法 (*in vitro*) 等。本文就药物肠道吸收的实验方法及其特点综述如下。

1 体内法

该方法反映药物在体内的总体吸收情况, 适用于多种药物的药动学研究。本文综述了经口给药后药物在肠道吸收的研究方法。本方法是指经口给药后, 不同时间点采集血液、尿液等, 测定药物浓度, 绘制体内药物的经时曲线, 计算 $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 等药动学参数来评价药物吸收的速度和程度。

龚明涛等^[1]采用大鼠 *ig* 给予等量黄芩素和黄芩苷, 研究黄芩苷的体内药动学特征。结果表明, 黄芩苷水解成苷元黄芩素后可以改善苷类化合物的理化性质和渗透性, 提高了黄芩苷的经口吸收生物利用

收稿日期: 2010-02-24

基金项目: 国家重大新药创制专项(编号 2009ZX09304-002)、国家自然科学基金(编号 30772778)国家高等学校博士学科点专项科研基金(编号 200800630005)、国家中医药管理局中医药行业科研专项(编号 200807051)资助。

作者简介: 祝诚诚(1985—), 女, 黑龙江省, 硕士研究生, 中药学专业。Tel: 13821472983, Email: zhucheng_0829@163.com

* 通讯作者 何新, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药代动力学研究。Tel: 022-23055511, Email: hexintn@yahoo.com

度, 为其剂型设计提供了新的思路。

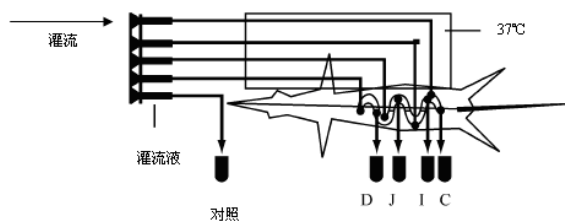
此法能够真实反映药物体内的总体吸收情况, 但它是综合了物化、生理、剂型等因素的结果, 很难从细胞或分子水平研究药物的吸收机制, 不能特异性的反映肠道的吸收情况, 且周期长, 影响因素较多, 如存在个体差异大带来的误差、实验结果受所研究物质在体内分解的影响等。

2 在体法

本法主要是应用于完整动物实验, 具有完整的血液供应和神经支配, 保证肠道神经完好无损, 直接反映药物的吸收情况, 常用于研究药物的渗透和吸收动力学。主要有在体肠灌流法、肠襻法、肠道的血管插管法和测氮法等。

2.1 在体肠灌流法 (intestinal perfusion) [2]

该法最初是由 Curran 等于 1957 年研究在体肠道时创立的^[2]。方法是用一双腔管经口腔插入所研究肠段(在实验动物中则是通过开腹手术将灌注管和引流管分别插入被研究的肠段的近端和远端), 用蠕动泵将含有所研究药物的溶液以一定的速度灌入肠腔, 收集流出液, 如图 1 所示, 分别测定其中的研究药物和示踪物的浓度, 计算所研究药物的吸收率。在体灌流方法根据灌流方式的不同可分为: 单向灌流、循环灌流和振动灌流等。



D-十二指肠; J-空肠; I-回肠; C-结肠

D- duodenum; J- jejunum; I- ileum; C- colon

图 1 在体肠灌流法装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of intestinal perfusion

DU 等^[3]使用单向肠灌流模型研究瑞香素在大鼠肠道吸收特性, 结果表明瑞香素 ($10 \sim 40 \mu\text{g/mL}$) 的吸收机制为被动扩散, 在小肠内无特定吸收部位, 并推断瑞香素不是 P-gp 底物。

该法即可以在不同时间测定灌流液内药物浓度的变化, 又可以从血液中取样, 以获得药物透过肠上皮细胞的情况, 但该法只限于溶液状态给药, pH 值、药物浓度、吸收部位等因素均有可能影响其测

定的准确性。

2.2 肠襻法 (intestinal loop) [4]

最早在 1971 年由 Kannikar 报道^[4]。方法是麻醉大鼠, 开腹结扎肠腔, 需作部位研究时, 可分段结扎肠腔, 将一定浓度的人工肠液注入肠襻中, 经过一定时间后, 取出肠襻, 收集肠襻冲洗液, 测定药物剩余量。

Khuriah 等^[5]研究新型增溶剂 Wellsolve 对灰黄霉素在大鼠体内肠屏障作用和肠吸收中的影响, 结果表明, 在低浓度下, Wellsolve 是一种提高灰黄霉素等水溶性较差药物的溶解和吸收的有效增溶剂。

该法操作简单, 但由于肠腔中存在大量内容物, 样品处理较复杂。

2.3 肠道的血管插管法 (vascular cannulation) [6]

在体肠灌流的基础上, 进行肠道血管处插管。实验过程中, 既可插管于对一段肠管供血的肠系膜血管, 也可以插管于对整段小肠供血的肠系膜上动脉和肝门静脉, 在不同时间内抽取门静脉或体静脉血以研究该物质从肠腔直接吸收入血的情况。

Fukatsu 等^[6]报道了关于在严重的肠缺血再灌注后早期给予营养的不利作用, 利用了肠道静脉插管法和胃造口术等技术, 结果表明, 严重的肠缺血再灌注后, 早期给予营养可能会降低器官存活, 该结果可能是由于在 IV-TPN 中增加了组织损伤或者在 IG-TPN 和 CED 中的其他机制所引起的。

本法中药物的吸收量是以药物被吸收到血液的变化量来计算, 不受动物的大小及血容量的限制, 能真实反映药物在小肠吸收的通透情况。但是, 实验结果受所研究药物在体内分解代谢的影响。

2.4 测氮法 (measuring nitrogen) [7]

通过测定动物排泄物与所给食物中氮的量的差异来计算该药物的吸收量。

王国兴等^[8]采用 sibbald 的强饲法测定氨基酸的消化率, 并通用无氮日粮法、梯度回归法及饥饿法测定内源氨基酸的排泄量, 证实了该法的在测定氨基酸真消化率及内源氨基酸排泄量的可行性。

该方法不需要给动物做手术, 对动物本身无生理影响, 方法简单。但是, 该方法较粗略, 在研究有机物质如氨基酸时易受到动物肠内细菌及内源性物质的影响而产生误差。

3 体外法

体外法简便易行, 重复性好, 实验环境和条件

便于控制,使影响因素单一化、简单化,但不能反映药物在机体的实际吸收状态,因此多用此法研究肠吸收机制等。该法主要包括外翻肠囊法、肠片孵育法、膜囊泡、细胞培养模型法、平行人造膜通透性测定法、in silico、药物溶出/吸收动态仿生系统法等。

3.1 外翻肠囊法 (everted gut sacs) [9]

自从 1954 年 Wilson 和 Wiseman^[9]采用此法研究肠道吸收功能以来,一直被广泛应用。该法是麻醉动物,开腹取出小肠,将肠段套于玻璃棒上外翻,置于含有药物的 Krebs-Ringer's 溶液中,定时从肠管内外两侧取样,测定药物浓度的变化,如图 2 所示。考虑到组织活性,实验时间不宜过长。

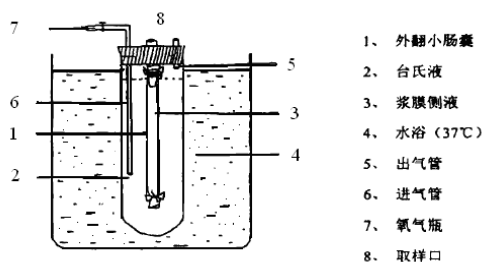


图 2 外翻肠囊法装置示意图

Fig.2 Schematic diagram of everted gut sacs

Sha 等^[10]应用外翻肠囊法和 Caco-2 细胞膜型法评价 9-硝基喜树碱的转运机制,结果显示 9-硝基喜树碱的吸收和外排受 pH 和外排转运体的调节,这也是影响 9-硝基喜树碱经口吸收差的主要影响因素。

本法是一种广泛用于研究肠吸收的方法,可用于研究生物膜的转运机制;另外,浆膜侧的体积相对较小,药物积累较快,便于样品的分析。但该方法只能观察药物透过肠壁的程度,无法计算较详尽的吸收动力学参数,并且因其缺乏血液及神经供应,组织易死亡;翻转小肠时易造成形态学破坏。

3.2 肠片孵育法 (Ussing chamber) [11]

该法需要一种称为 Ussing 槽或孵育槽的装置,这种方法是 Ussing 等^[11]在研究蛙皮肤对钠离子主动转运机制时提出的。其方法是将大小合适的肠片或黏膜固定于互不相通的分别含有黏膜液和浆膜液的槽之间的孔上,孵育一定时间后,测定膜两侧研究药物的量,计算出研究药物从黏膜到浆膜的吸收率,如图 3 所示。还可利用 Ussing 槽通过控制膜两侧的膜电位而求出药物被动转运的量。

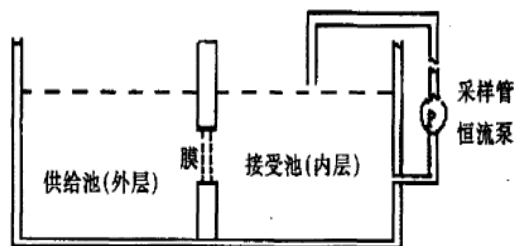


图 3 Ussing chamber 扩散池装置示意图

Fig.3 Schematic diagram of Ussing chamber diffusion cell

Bergmann 等^[12]为验证肠片孵育法是研究药物代谢、转运的良好模型,将部分结肠安装 Ussing 槽上,结果证实了 T84 细胞是模拟肠粘膜的有利模型体系,并且多酚类能够增加 T84 细胞的上皮电阻。

该法在试验过程中可以测定小肠膜的电阻以判断小肠的存活情况;可比较不同小肠部位对药物吸收的影响;所需药物数量相对较少且样品干净易于分析;也适合于人体小肠的研究,用于比较种间差异。但该方法缺乏血液及神经供应,在手术及镶嵌过程中易造成形态学破坏。

3.3 膜囊泡 (membrane vesicle) [13]

最早在 1973 年由 Hopfer^[13]报道,该法是将膜囊泡混悬在含药缓冲液中,摄取药物,从而模拟药物吸收的过程,用于研究药物的吸收或代谢,包括刷状缘膜囊泡和基底膜囊泡。

Oulianova 等^[14]应用刷状缘膜囊泡法研究 23 种化合物的吸收特性,结果与人口服吸收情况相关性良好,相关系数为 0.853 ($P < 0.001$),证明该法用于预测药物吸收的可行性。

该法实验时间比较短;所需的药物比较少;膜囊泡制备比较方便;精确度高,可以用于深入研究药物的特性、营养物质的转运。但是,膜囊泡不是很纯,可能含有其他碎片;在制备膜囊泡的过程中,因为使用了消化液,可能对蛋白质造成损伤;制备膜囊泡的重现性并不好;缺少细胞代谢,因此不能用于研究 ATP 依赖性转运,以及细胞旁路转运。

3.4 细胞培养模型法

为了在细胞/分子水平更深入的研究药物吸收机制,多种细胞模型应运而生,主要有 Caco-2、TC7、MDCK 等细胞模型。其中 Caco-2 细胞模型作为研究小肠表皮细胞药物转运和代谢的体外模型,已广泛应用于口服药物的筛选和研究药物肠吸收的过程,成为了研究药物吸收较适合的模型。

3.4.1 Caco-2 细胞模型法^[15]

Caco-2 细胞来源于人体结肠腺癌细胞。该法由 Hidalgo 等^[16]在 1989 年最初提出。Caco-2 细胞单层模型(图 4)应用于研究药物双向转运情况,通过考察时间、药物浓度及抑制剂等影响因素,计算其表观渗透系数,研究药物吸收机制。

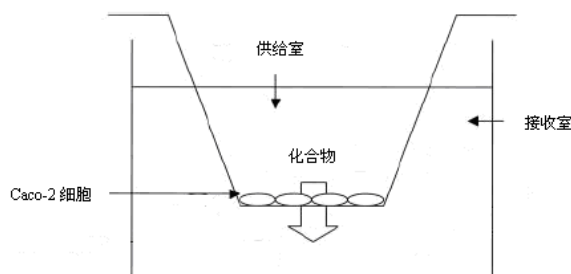


图 4 Caco-2 细胞模型示意图

Fig.4 Schematic diagram of Caco-2 cell model

Hang 等^[15]用 Caco-2 细胞进行 4 种绿茶儿茶酚的双向转运研究,发现 MRP 对五倍子酸儿茶酚代谢物的外排表现出抑制作用。儿茶酚在 Caco-2 细胞中的代谢产物主要是硫酸化和甲基化代谢物。Han 等^[17]使用 Caco-2 单层细胞作为体外模型,研究 Rg₁ 通过肠粘膜的转运机制。结果显示, Caco-2 单层细胞对 Rg₁ 的摄取存在温度依赖性,但不受环孢霉素 A 影响。Rg₁ 的摄取和转运是非饱和的,为被动转运。

其优点为: Caco-2 细胞来源是人结肠癌细胞,同源性好;可用于区分肠腔内不同吸收途径的差别,判断药物吸收的方式,求出药物吸收的动力学参数。但 Caco-2 细胞也有一定的缺点,如缺少肠壁的粘液层;缺少部分代谢酶;屏障特性与结肠上皮细胞类似,而与小肠上皮细胞有一定差别。但大量的研究表明, Caco-2 模型适用于新药开发的早期阶段,是目前国内外公认的研究药物肠吸收的较理想的体外模型。

3.4.2 TC7 细胞模型法

TC7 细胞是 Caco-2 细胞经甲氨蝶呤处理后分离得到的,是 Caco-2 细胞的良好替代,是药物经小肠吸收和生物转化作用评价的良好模型。

CYP3A 表达比 Caco-2 细胞高,能主动转运牛磺胆酸,以及高表达刷状边缘的蔗糖酶-异麦芽糖酶的活性,但其 P-gp 的表达比 Caco-2 细胞低^[18-20]。

3.4.3 MDCK (Madin-Darby canine kidney) 细胞模型法^[21]

MDCK 细胞系由 Leighton 等^[21]首先建立起来。MDCK 细胞是在遗传学方面及细胞的脂质、蛋白质组成方面最为理想的上皮细胞系。制药公司也经常应用它监控肠内药物转运。MDCK 细胞具有极性,基底侧贴于瓶底,面向液层由微绒毛形成,并形成圆顶,研究表明这些细胞与肾远曲小管很接近。

Irvine 等^[22]研究表明: Caco-2 细胞和 MDCK 细胞的渗透性有良好的相关性,亲水分子在 Caco-2 细胞中的渗透性通常比 MDCK 细胞低,这同 Caco-2 细胞电阻稍高一致。

MDCK 细胞比 Caco-2 细胞的培养时间短,跨上皮电阻低,接近于小肠。但该细胞单层只能用于预测肠上皮细胞的被动转运,不能用于研究透过制或预测经肠上皮细胞主动吸收或外流。

3.5 平行人造膜通透性测定法 (PAMPA-Parallel Artificial Membrane Permeability Assay)^[23]

Kansy 等^[23]最早提出利用 PAMPA 方法研究药物通过磷脂覆盖的滤膜的通透性。该法是一种用于测定化合物通过(和保留于)浓缩的带负电荷的磷脂双分子层屏障的通透性的方法。

Koljonen 等^[24]通过利用 PAMPA 与 Caco-2 对水杨酸的通透性研究,说明 PAMPA 能在不受主动转运的因素干扰下,较好的评价化合物的理化性质对膜通透性的影响。

此法在新药研发的早期作为一种非常重要的通透性筛选工具。但不能用于模拟主动转运的化合物,只适用于考察被动扩散,而且主要是不带电的化合物的被动扩散。

3.6 In silico^[25]

In silico 最早在 2001 年由 Lipinski^[25]报道。In silico 是生物信息学的新名词,它强调使用计算机来解决生物学上的问题。In silico 的技术核心为结构活性关系,原理基于分析研究分子或原子的基本结构特征及其理化性质以预测药物动力学性质。

Lu 等^[26]使用 In silico 方法预测丹参酚酸类成分的渗透性和溶解性,结果表明,就溶解度而言,丹参中所含有的主要酚酸类成分属于可溶或易溶的化合物,并且氢键容量和脂溶性是影响多酚酸化合物的膜通透性,进而影响吸收的最主要因素,因为结构类似,分子量对膜通透性的影响体现在氢键容量

的影响。

In silico 方法简便快速,对于化合物早期设计和候选药物筛选是很好的工具,适合药物研究初期的高通量筛选。但是,用 In silico 预测吸收情况只有在没有转运体参与的被动扩散时才适用。

3.7 药物溶出/吸收仿生系统法 (drug dissolution/absorption simulating system, DDASS) [27]

有关药物体外溶出/吸收动态评价系统的报道并不多见。1999 年, Ginskin 等^[28]建立了药物溶解/Caco-2 细胞膜系统,成功预测可溶性药物的吸收能力。该仿生体系由药物溶解室(模拟胃)、pH 调整室(模拟肠)以及扩散池 3 个部分组成(图 5),扩散池又由供给室、接收室以及嵌合在两者之间的 Caco-2 单层细胞膜或大鼠离体肠管组成;测定时将药物固体粉末加入到药物溶解室中,由恒流蠕动泵将溶解的药物移送至 pH 调整室,然后进一步移送至扩散池的供给室,通过样品程控自动收集器可随时分别从供给室和接收室收集样品。

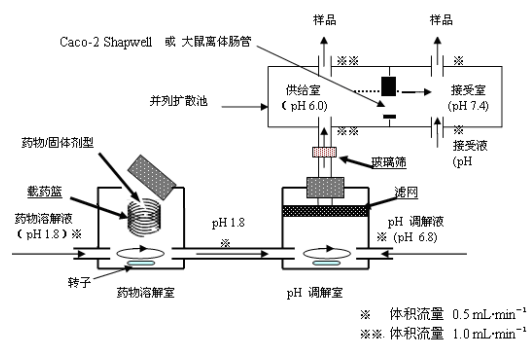


图 5 药物溶出/吸收动态仿生系统装置示意图

Fig.5 Equipment schematic diagram of DDASS

He 等^[27]完善了该模型,并将其用于解析药物投与后的崩解、溶出和膜透过规律,用数学模型和动力学参数表征药物变化规律的动力学特点。在此基础上,He 等^[29]用大鼠肠管代替药物溶解与吸收体外预测系统中的 Caco-2 单层细胞膜,准确预测了酯前体药物 pivampicillin 经小肠降解代谢为 ampicillin 后的吸收率。为使研究对象从药物固体粉末或颗粒剂扩展到片剂、胶囊剂等多种固体剂型,本实验室在原有模型基础上进行改进^[30]:在药物溶解室加入载药篮,解决受力不均匀的问题;在 pH 调整室顶部加入筛网和微孔滤器,解决堵塞管道的问题。分别采用该仿生系统和桨法体外释放度实验,对黄芩苷不同固体制剂进行体外释放度研究,结果

表明该仿生系统作为评价药物固体制剂释药特性的合理性,扩大了评价对象,发展和完善了 DDASS 模型,为药物剂型设计研究提供了新方法。有关在该仿生系统中嵌合 Caco-2 单层细胞膜或大鼠离体肠管的体外吸收实验正在进行。

该仿生系统不仅考虑到药物从胃 (pH 1.8) 移行至肠 (pH 6.0) 过程中 pH 的急剧变化对药物溶解性、稳定性、以及药物释出的影响,并且连续模拟药物在胃内溶解、继而移行至肠道及透膜吸收的胃肠道连续动态过程;在实时监测药物固体制剂整个释放过程,评价释药规律的同时,还能同步监测药物固体制剂的透过情况,为药物剂型设计研究提供了新技术和新方法。

4 结语

在新药研发的早期阶段,通常采用各种肠道吸收模型预测药物的经口生物利用度及吸收机制研究,进行新药设计和剂型的改进,降低新药研发投资的风险。研究者应根据各模型的特点和实际需要选择合适的研究方法,结合实验结果和模型因素对药物的肠道吸收行为作出科学评价。

参考文献:

- [1] 龚明涛,虞丽芳,陈庆华,等. 大鼠灌胃黄芩苷及其苷元黄芩素的药动力学研究[J]. 中草药, 2009, 40(3):392-394
- [2] Curran P F, Solomon A K. Ion and water fluxes in the ileum of rats[J]. *J Gen Physiol*, 1957, 41(1):143-168.
- [3] Du Q, Di L Q, Shan J J, et al. Intestinal absorption of daphnetin by rats single pass perfusion *in situ*[J]. *Acta Pharm Sin*, 2009, 44 (8) :922-926.
- [4] Kannikar P, Richard A F. Enteropathogenicity of *Escherichia coli*[J]. *Infect Immun*, 1971, 4(4):473-478
- [5] Hamida K A, Lin Y L, Gao Y, et al. The effect of wellsolve, a novel solubilizing agent, on the intestinal barrier function and intestinal absorption of Griseofulvin in rats[J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(11), 1898-1905.
- [6] Fukatsu K, Ueno C, Maeshima Y, et al. Detrimental effects of early nutrition administration after severe gut ischemia-reperfusion[J]. *J Surg Res*, 2008, 149(1), 31-38.
- [7] 董红林,蔡军伟,杨 晶. 研究小肠吸收的常用方法[J]. 医学研究通讯, 1999, 28(12):28-29.
- [8] 王国兴,王康宁,贾 刚,等. 差量法测定鸭饲料氨基酸真消化率和内源氨基酸排泄量的研究[J]. 动物营养学报, 2008, 20(1):16-22
- [9] Wilson T H, Wiseman G. The use of sacs of everted small

- intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface[J]. *J Physiol*, 1954, 123(1):116-125.
- [10] Sha X, Fang X. Transport characteristics of 9-nitrocamptothecin in the human intestinal cell line Caco-2 and everted gut sacs[J]. *Int J Pharm*, 2004, 272(1-2):161-171
- [11] Ussing H H, Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin[J]. *Acta Physiol Scand*, 1951, 23(2-3):110-127.
- [12] Bergmann H, Rogoll D, Scheppach W, *et al*. The Ussing type chamber model to study the intestinal transport and modulation of specific tight-junction genes using a colonic cell line[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2009, 53(10): 1211-1225
- [13] Hopfer U, Nelson K, Perrotto J, *et al*. Glucose transport in isolated brush-border membrane from rat small intestine[J]. *J Biol Chem*, 1973, 248:25-32.
- [14] Oulianova N, Cheng D P, Huebert N, *et al*. Human oral drugs absorption is correlated to their in vitro uptake by brush border membrane vesicles [J]. *Int J Pharm*, 2007, 336:115-121
- [15] Hang L Z, Zheng Y, Chow M S S, *et al*. Investigation of intestinal absorption and disposition of green tea catechus by Caco-2 monolayer model [J]. *Int J Pharm*, 2004, 287 (1-2) :1-12.
- [16] Hidalgo 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):736-739.
- [17] Han M, Fang X L. Difference in oral absorption of ginsenoside Rg1 between in vitro and in vivo models [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(4):499-505.
- [18] Raeissi S D, Guo Z, Dobson G L, *et al*. Comparison of CYP3A activities in a subclone of Caco-2 cells (TC7) and human intestine [J]. *Pharm Res*, 1997, 14(8):1019-1025.
- [19] Raeissi S D, Hidalgo I J, Segura-Aguilar J, *et al*. Interplay between CYP3A-mediated metabolism and polarized efflux of terfenadine and its metabolites in intestinal epithelial Caco-2 (TC7) cell monolayers [J]. *Pharm Res*, 1999, 16(5), 625-632.
- [20] Isabelle C, Xavier B, Monique R, *et al*. Characterisation of a newly isolated Caco-2 clone (TC-7), as a model of transport processes and biotransformation of drugs [J]. *Int J Pharm*, 1995, 116:147-158.
- [21] Leighton J, Brada Z, Estes L W. Secretory activity and oncogenicity of a cell line (MDCK) derived from canine kidney [J]. *Science*, 1969, 163(866):472-473.
- [22] Irvine J D, Takahashi L, Lockhart K, *et al*. MDCK(Madin-Darby canine kidney) cells: a tool for membrane permeability screening [J]. *J Pharm Sci*, 1999, 88(1):28-33.
- [23] Kansy M, Senner F, Gubernator K. Physicochemical high throughput screening: parallel artificial membrane permeation assay in the description of passive absorption processes [J]. *J Med Chem*, 1998, 41: 1007-1010.
- [24] Koljonen M, Rousu K, Cierny J, *et al*. Transport evaluation of salicylic acid and structurally related compounds across Caco-2 cell monolayers and artificial PAMPA membranes[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, 70 (2) :531-538.
- [25] Lipinski C A, Franco L, Beryl W D, *et al*. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2001, 46 :23-26
- [26] Lu T, Yang J L, Gao X M, *et al*. Plasma and urinary tanshinol from salvia miltiorrhiza (Danshen) can be used as pharmacokinetic markers for cardioprotective pills, a cardiovascular herbal medicine[J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(8):1578-1586.
- [27] He X, Sugawara M, Kobayashi M, *et al*. An *in vitro* system for prediction of oral absorption of relatively water-soluble drugs and ester prodrugs [J]. *Int J Pharm*, 2003, 263: 35-44.
- [28] Ginski M J, Polli J E. Prediction of dissolution-absorption relationships from a dissolution/Caco-2 system [J]. *Int J Pharm*, 1999, 177:117-125.
- [29] He X, Sugawara M, Takekuma Y, *et al*. Absorption of ester prodrugs in Caco-2 and Rat intestine models [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(7):2604-2609.
- [30] 祝诚诚, 李自强, 刘志东, 等. 药物溶出仿生系统研究黄芩苷固体制剂的释放规律[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2010, 15(1):11-20.