

以 NCTD-CS-NP 的体外累积溶出度 (F_R) 与对应的在体小肠吸收 P_{A1} 和离体小肠吸收 P_{A2} 数据进行回归, 体内外相关方程为: $P_{A1} = 1.6157 F_R - 133.6800$, $r = 0.9130$; $P_{A2} = 1.0036 F_R - 80.5040$, $r = 0.9263$; $P_{A1} = 0.9694 \times P_{A2} + 0.9068$, $r = 0.9994$ 。可见, 壳聚糖纳米粒制剂的 F_R 与体内、体外肠吸收之间具有良好的线性相关性。

4 讨论

研究表明去甲斑蝥素在胃肠液中以去甲斑蝥酸的形式存在, 去甲斑蝥酸具有过高的水溶性, 不利于药物的胃肠道吸收^[5]。因此, 将药物包载于壳聚糖纳米粒中, 以望能达到促进药物吸收的目的。

对壳聚糖纳米粒进行大鼠在体、离体肠循环实验, 并与原料药水溶液进行对比。实验结果表明, 药物在大鼠肠道的中上部有吸收, 而结肠段几乎无吸收, k_a 按十二指肠、空肠、回肠、结肠顺序下降; 其中, 十二指肠段吸收最为显著; 而两种制剂不同质量浓度给药量之间皆无明显差异; 壳聚糖纳米粒具有明显的促进药物胃肠道黏膜转运的功能。这与相关文献报道^[6]一致。壳聚糖带有游离氨基, 是一种带正电荷的碱性多糖, 能够破坏带负电荷的磷脂双分子

层的规整排列, 从而打开黏膜上皮细胞的紧密排列。采用离子诱导法制备的壳聚糖纳米粒, 由于表面游离氨基的存在, 依然具有壳聚糖的上述特性, 故能促进所包载药物的黏膜透过。

对药物体外释放及肠吸收进行相关性分析表明: 药物的累积释药与在体、离体肠吸收均相关性良好。并且, 在体吸收与离体吸收也有显著的相关性。

壳聚糖纳米粒的应用正成为国内外探讨的热点, 但是, 其促进药物黏膜吸收的机制尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Stewart S G, Hill T A, Gilbert J, et al. Synthesis and biological evaluation of norcantharidin analogues: Towards PP1 selectivity [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15 (23): 7301-7310.
- [2] 刘建宇, 赵绪元. 去甲基斑蝥素抗肿瘤作用及其靶向给药系统的研究进展 [J]. *中南药学*, 2007, 5 (4): 355-358.
- [3] 田海燕, 翟光喜. 去甲基斑蝥素固体脂质纳米粒的制备及其理化性质研究 [J]. *中药材*, 2007, 30 (9): 1146-1148.
- [4] 张 玮, 刘 扬, 张学农, 等. 去甲基斑蝥素低分子量壳聚糖纳米粒的制备表征及其体外释放研究 [J]. *中草药*, 2008, 39 (10): 4-9.
- [5] 王广生, 李荣昌, 窦培延. 去甲斑蝥素在胃肠液中的存在状态 [J]. *药学通报*, 1984, 19 (8): 24-26.
- [6] Janes K A, Calvo P, Alonso M J. Polysaccharide colloidal particles as delivery system for macromolecules [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2001, 47: 83-97.

Caco-2 细胞单层模型中熊果酸摄取转运机制的研究

程晓华^{1,2}, 熊玉卿^{2*}

(1. 南昌大学第一附属医院, 江西 南昌 330006; 2. 南昌大学医学院 临床药理研究所, 江西 南昌 330006)

摘 要:目的 研究熊果酸在 Caco-2 细胞单层模型中的吸收转运机制。方法 利用人源结肠腺癌细胞系 Caco-2 细胞单层模型研究熊果酸在有或无 P-糖蛋白专属性抑制剂维拉帕米存在时, 评价其双向转运特征, 并考察时间、药物浓度、体系温度以及培养介质 pH 值对 Caco-2 细胞摄取熊果酸的影响。采用高效液相色谱-紫外检测法对熊果酸进行定量分析, 计算其表现渗透系数 (P_{app})。结果 浓度在 10~40 $\mu\text{mol/L}$ 内, Caco-2 细胞对熊果酸摄取量呈线性增加。双向转运研究发现加入 P-糖蛋白专属性抑制剂维拉帕米后, 其 P_{app} 发生显著改变, 表现渗透率由 3.445 下降至 1.386。结论 熊果酸在 Caco-2 细胞模型的吸收转运机制以被动转运为主, P-糖蛋白参与主动转运的过程。

关键词:熊果酸; Caco-2 细胞单层; 吸收; 转运

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)12-1935-05

Absorption and transport mechanism of ursolic acid across Caco-2 monolayer model

CHENG Xiao-hua^{1,2}, XIONG Yu-qing²

(1. The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2. Institute of Clinical Pharmacology, Medical College of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: Objective To study the absorption and transport mechanism of ursolic acid (UA) by using Caco-2 monolayer model. **Methods** Evaluating the transport characteristic through studying whether

收稿日期: 2009-03-12

作者简介: 程晓华 (1981—), 男, 江西余干人, 药师, 研究方向为药物代谢及药动学。Tel: (0791) 8692713

* 通讯作者 熊玉卿 Tel: (0791) 6360654 E-mail: xyq1126@yahoo.com.cn

P-glycoprotein (P-gp) transporter inhibitor Verapamil (VER) exists or not by using Caco-2 cell monolayer as an intestinal epithelial cell model and investigating the effects of uptake time, drug concentration, system temperature, and pH value of culture media on the uptake of UA. The drug concentration was measured by HPLC coupled with UV detector. Transport parameters and apparent permeability coefficients (P_{app}) were then calculated. **Results** In the concentration range of 10—40 $\mu\text{mol/L}$, the uptake of UA by Caco-2 cell all linearly increased. The P_{app} of UA transported on Caco-2 cell monolayer model significantly changed when the specificity inhibitory of P-gp was added to model and the apparent permeability ratio decreased from 3.445 to 1.386. **Conclusion** The intestinal absorption of UA is passive diffusion as the dominating process and active transportation mediated by P-gp transporter in Caco-2 cell monolayer model.

Key words: ursolic acid (UA); Caco-2 cell monolayer; absorption; transport

熊果酸 (ursolic acid, UA), 又名乌索酸、乌苏酸, 属 α -香树脂醇型五环三萜类化合物。在自然界分布非常广泛, 据目前所知, 至少存在于 26 个科 70 多种天然植物中, 如在夏枯草、陆英、车前草、白花蛇舌草、柿蒂、乌梅、女贞子等中药中均含有熊果酸^[1]。大量的研究表明, 熊果酸具有广泛的药理作用和重要的生物活性, 尤其在抗炎、护肝、抗肿瘤以及机体免疫调节等方面已经显现出令人关注的药理特性^[2~4]。体内药动学研究表明, 熊果酸的生物利用度低^[5], 口服吸收情况较差, 而且其在体内吸收转运的方式和机制也并不清楚。小肠是口服药物吸收的主要部位, 肠道上皮细胞单层上存在的屏障及酶系统成为药物吸收的主要屏障, 决定了药物的生物利用度和代谢动力学行为。Caco-2 细胞系来源于人结肠类腺癌细胞, 其结构和生化作用类似于人小肠上皮细胞, 含有与小肠刷状缘上皮相关的转运系统以及一些酶系^[6]。由于药物透过 Caco-2 细胞单层的体外过程与口服药物在肠道吸收有良好的相关性, 因此, 近年来 Caco-2 细胞模型作为药物离体口服特性筛选模型和研究药物肠吸收的体外模型为国内外学者广泛采用^[7,8]。本研究采用 Caco-2 细胞单层模型研究熊果酸的吸收机制, 评价熊果酸在 Caco-2 细胞单层模型的双向转运特征, 并考察时间、药物浓度、体系温度以及培养介质 pH 值对 Caco-2 细胞摄取熊果酸的影响, 试图揭示熊果酸口服生物利用度低的原因。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂: DMEM 培养基及非必需氨基酸 (NEAA) 购自 Gibco 公司; 胎牛血清 (FBS) 购于杭州四季青公司; L-谷氨酰胺、0.25% 胰酶-1 mmol/L EDTA 溶液、维拉帕米为 Sigma 产品; 硫酸链霉素购于华北制药有限公司; 青霉素购于江西东风药业股份有限公司。熊果酸由江西省宜春学院生物工程开发中心提供, 质量分数约为 99.8%。甲醇、

乙腈为色谱纯; 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与耗材: T-75 细胞培养瓶、24 孔培养板、6 孔聚碳酸酯膜 Transwell 培养板购自美国 Corning Costar 公司。CKX-41 型倒置光学显微镜 (日本 Olympus); EVOM 细胞电位仪 (美国 WPI); BP61S 型电子天平 (德国 Sartorius); KA-1000 型台式离心机与 LJX-II B 型多管离心机 (上海安亭科学仪器厂); 550 型酶标仪 (美国 Bio-RAD 公司); Cyber-scan PH510 酸度计 (新加坡 Eutech 公司); 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SANYO 超低温冰箱 (日本三洋公司); GS-15R 型高速冷冻离心机 (美国 Beckman 公司)。

1.3 细胞株: Caco-2 细胞株购自于美国典型菌种保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC), 实验中所用细胞代数 30~50 代。

1.4 细胞培养: Caco-2 细胞培养于高糖 DMEM 培养液 (含 10% FBS, 1% NEAA, 1% L-谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素) 中, 接种于 T-75 培养瓶, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 、90% 相对湿度条件下的培养箱中进行培养。隔日换液 1 次, 当细胞融合率达 90% 后, 用 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热 0.25% 胰蛋白酶-1 mmol/L EDTA 消化液进行消化传代。取对数生长期的细胞, 调节密度为 8×10^4 个/mL 接种于 6 孔 Transwell 板上, 肠腔侧 (Apical, AP) 加培养液 1.5 mL, 基底侧 (Basolateral, BL) 加 2.6 mL 培养液。隔天换液 1 次, 1 周后每天换液, 培养至 21~24 d 后待细胞培养达到基本汇合分化, 经过验证, 细胞形成紧密的单层后, 即可用于实验。

1.5 色谱条件: 流动相为乙腈-0.01% 磷酸 (86:14), 体积流量: 1.0 mL/min; 色谱柱: Diamonsil C_{18} 柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 检测波长: 210 nm; AUFS: 0.015; 柱温: 室温。

1.6 样品处理: 摄取实验终止后, 每孔加入 1.0 mL HBSS, 置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中反复冻融 4 次以

破碎细胞,将细胞破碎液移入 EP 管 14 500 r/min 离心 10 min,取上清液 400 μ L 加入 2 mL 正己烷-异丙醇 (95:5) 涡旋混合 3 min,3 500 r/min 离心 10 min,取上层有机相于 50 $^{\circ}$ C 氮吹挥干,残留物 80 μ L 甲醇溶解后,14 500 r/min 离心 5 min,取上清液 20 μ L 进行 HPLC 分析。

1.7 MTT 法检测细胞活性:取对数生长期 Caco-2 细胞,调整细胞密度至 1×10^5 个/mL,每孔加 200 μ L 细胞悬液,接种于 96 孔培养板,培养 24 h 后换液,实验组加入含熊果酸浓度分别为 10、20、30、40、60、80 μ mol/L 的培养液,不加药只含细胞的阴性对照组以及不加药无细胞空白组只加培养液,每组设 4 个复孔,继续培养 24 h 后,每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μ L,再培养 4 h 后吸弃孔内培养液,每孔加 150 μ L DMSO 溶液,将 96 孔板置于双层空气恒温振荡器中,以转速为 50 r/min 振荡 10 min,在酶标仪上选择波长 570 nm 处,空白孔调零,测定各孔吸光度值,计算细胞存活率 (存活率 = 实验组吸光度值/对照组吸光度值 $\times 100\%$)。

1.8 摄取试验:取对数生长期的 Caco-2 细胞,调整细胞密度为 1×10^4 个/mL,接种于 24 孔培养板上,按标准细胞培养程序培养约 14 d 后,于实验前 2 h 缓慢吸弃旧培养液,加入预热的 HBSS 1.0 mL 荡洗细胞 3 次,最后一次置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱温孵 30 min 后,缓慢吸弃 HBSS 溶液,洗去细胞单分子层表面杂质并以期不破坏其细胞单层膜,给予不同的处理因素,考察时间、药物浓度、体系温度及培养介质 pH 值对药物摄取的影响。不同因素各组均设 4 个复孔,定时缓慢吸弃含药 HBSS 后,加入 4 $^{\circ}$ C 的 HBSS 荡洗 3 次,最后加入 1.0 mL HBSS, -80 $^{\circ}$ C 超低温冰箱中反复冻融 4 次以破碎细胞,细胞破碎液移入 EP 管 14 500 r/min 离心 10 min。取上清液 400 μ L,按 1.6 项操作后,HPLC 法测定 Caco-2 细胞中熊果酸的量,另取 200 μ L 上清液用于考马斯亮蓝法细胞蛋白定量,Caco-2 细胞对熊果酸的摄取量以每克蛋白对应的熊果酸的物质的量表示。

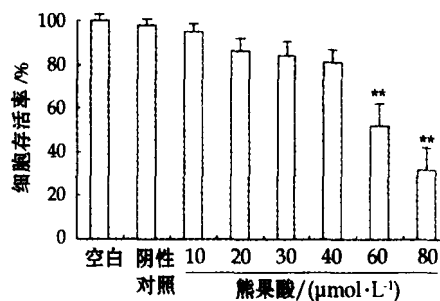
1.9 转运试验:取符合转运要求的 Caco-2 细胞模型,试验前 2 h 用预热的 HBSS 清洗生长有 Caco-2 细胞的 Transwell 板 3 次,最后 1 次置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中温孵 30 min,缓慢吸弃,洗去细胞单分子层表面的杂质并以期不破坏其细胞单层膜。双向转运及其抑制试验对于 AP $\rightarrow$ BL 转运,将含 40 μ mol/L 熊果酸的 HBSS (pH 6.5) 1.5 mL 或含 100 μ mol/L 维拉帕米的 HBSS (pH 7.4) 2.6 mL 加到 AP 侧

作为供侧,同时 BL 侧加入 2.6 mL 空白 HBSS (pH 7.4) 或含 100 μ mol/L 维拉帕米的 HBSS (pH 6.5) 混合液 1.5 mL 作为受侧;同样,对于 BL $\rightarrow$ AP 转运,将含 40 μ mol/L 的熊果酸的 HBSS (pH 6.5) 2.6 mL 或 40 μ mol/L 熊果酸和 100 μ mol/L 维拉帕米的 HBSS (pH 6.5) 混合液 2.6 mL 加到 BL 侧作为供侧,AP 侧加入 1.5 mL 空白 HBSS (pH 7.4) 或含 100 μ mol/L 维拉帕米的 HBSS (pH 7.4) 1.5 mL 作为受侧,将转运装置 Transwell TM 板置于 37 $^{\circ}$ C、转速为 50 r/min 的双层空气恒温振荡器中孵育,分别于 5、10、20、30、40、60、90 min 从受侧吸取 HBSS 转运液 400 μ L,同时补加 400 μ L 空白 HBSS (pH 7.4),每组设 3 个平行孔,样品按 Caco-2 细胞样品处理后 HPLC 分析,计算其表观渗透系数 (P_{app})。

1.10 数据计算及统计学处理: $P_{app} = (\Delta Q / \Delta t) / (A \cdot C_0)$, ΔQ 为 Δt 时间内药物转运量, A 为聚碳酸酯膜的表面积,6 孔板膜表面积为 4.5 cm^2 , C_0 为熊果酸在供侧的初始浓度。表观渗透率 (apparent permeability ratio, PDR) 的计算: $PDR = P_{app\text{BL} \rightarrow \text{AP}} / P_{app\text{AP} \rightarrow \text{BL}}$,结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 熊果酸对 Caco-2 细胞活性的影响:MTT 法检测判断熊果酸对 Caco-2 细胞的毒性,结果见图 1。结果表明随着熊果酸浓度的增加,细胞存活率逐渐下降,细胞增殖被明显抑制,呈现剂量依赖性。熊果酸浓度在 10~40 μ mol/L 时,细胞存活率均在 80% 以上,当药物浓度 >40 μ mol/L 时,部分细胞则出现细胞毒作用并伴随细胞形态学的改变。因此,以 10~40 μ mol/L 为转运试验中给药浓度。



与 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 熊果酸比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ursolic acid

图 1 熊果酸对 Caco-2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Fig.1 Effect of UA on survival rate of Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

2.2 不同处理因素对细胞摄取熊果酸的影响:从图 2 中可见熊果酸浓度为 40 μ mol/L 时,Caco-2 细

胞对熊果酸的摄取量在 0~20 min 迅速增加,20 min 后摄取较平缓并逐渐趋于稳态。因此选取 20 min 作为以下药物摄取实验中的取样时间。在 20 min 内浓度为 10、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ 的熊果酸被 Caco-2 细胞摄取量随着药物浓度的增加基本呈线性增加,不存在明显摄取饱和和趋势,结果见图 3。分别考察浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 的熊果酸在不同温度条件下的细胞摄取情况,结果显示 4、25、37 $^{\circ}\text{C}$ 时 Caco-2 细胞对熊果酸的摄取量比较接近,差异不显著 ($P>0.05$),表明 Caco-2 细胞对熊果酸的摄取受温度的影响不大,因此在以下实验中选择体系温度为 37 $^{\circ}\text{C}$,结果见图 4。而随着体系 pH 值从 5.5 升高至 8.0,40 $\mu\text{mol/L}$ 熊果酸摄取量逐渐下降,在 pH 为 8.0 时摄取量最小,结果见图 5。考虑到更接近于小肠生理特征,因此在以下实验中将所有介质 pH 值均调至 6.5 左右。

2.3 转运试验结果:熊果酸在 Caco-2 细胞单层模型中的转运,在加入 P-糖蛋白专属性抑制剂维拉帕米与否时,测定其在 Caco-2 细胞单层模型中转运 P_{app} 及其 PDR,所测得 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 与 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 两组间比较具有显著差异 ($P<0.01$),表明熊果酸在 Caco-2 细胞单层模型中的转运具有较明显的方向性。

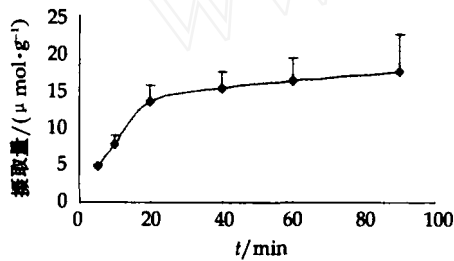


图 2 时间对 Caco-2 细胞摄取熊果酸的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)
Fig. 2 Effect of time on uptake of UA by Caco-2 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

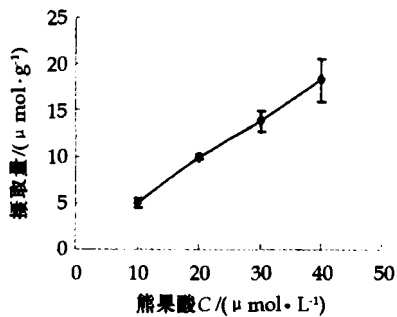


图 3 熊果酸浓度对 Caco-2 细胞摄取熊果酸的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)
Fig. 3 Effect of concentration of UA on uptake of UA by Caco-2 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

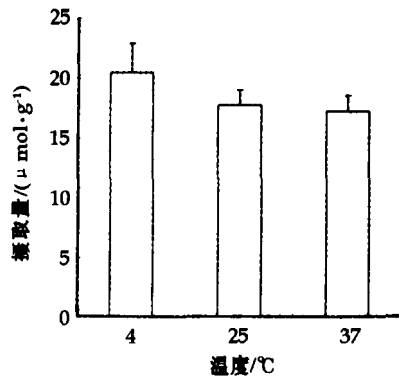
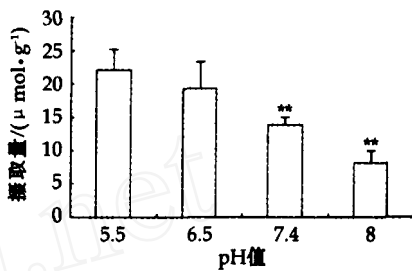


图 4 温度对 Caco-2 细胞摄取熊果酸的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)
Fig. 4 Effect of temperature on uptake of UA by Caco-2 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)



与 pH 值 5.5 比较: ** $P<0.01$
** $P<0.01$ vs pH value 5.5
图 5 pH 值对 Caco-2 细胞摄取熊果酸的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)
Fig. 5 Effect of pH value on uptake of UA by Caco-2 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

转运介质中加入维拉帕米后,药物吸收方向 (AP $\rightarrow$ BL) P_{app} 明显上升,分泌方向 (BL $\rightarrow$ AP) P_{app} 则有所下降,其 PDR 值由 3.445 下降至 1.386,结果见表 1。

表 1 熊果酸在 Caco-2 细胞转运的 P_{app} 和 PDR 值 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组 别	$C/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	$P_{\text{app}}/(\times 10^{-6}\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$		PDR
		AP $\rightarrow$ BL	BL $\rightarrow$ AP	
熊果酸	40	3.73 ± 0.65	12.59 ± 0.64	3.445
熊果酸+维拉帕米	40+100	7.48 ± 1.50	10.18 ± 0.76	1.386

3 讨论

Caco-2 细胞模型应用在药物吸收机制研究中时,通过 MTT 法测得熊果酸浓度在 10~40 $\mu\text{mol/L}$ 内,Caco-2 细胞的存活率均大于 80%,为同时尽可能满足 HPLC 方法检测限的要求,因而选取了 40 $\mu\text{mol/L}$ 作为反应底物的反应浓度,同时考察了其他因素对摄取转运的影响,优化吸收转运试验条件,为更好地研究熊果酸通过 Caco-2 细胞单层摄取转运提供了理论基础。在对熊果酸摄取转运机制的

研究中,通过对摄取因素的考察,结果表明浓度在 $10\sim 40\ \mu\text{mol/L}$,熊果酸摄取不存在饱和现象,主要为被动摄取的过程。此外,若在整个浓度范围内测得的 P_{app} 值保持恒定,则被动扩散为主要转运机制。在跨细胞膜转运实验中,若 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 与 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 相等,可初步认为被动扩散为受试药物的主要转运机制,若 PDR 值大于 1.5,则提示除被动转运外,可能还存在主动转运^[9]。 P -糖蛋白和多药耐药蛋白是 Caco-2 细胞中两种主要的转运蛋白,两者均能发挥外排泵作用,能将细胞内的化合物逆浓度梯度运至细胞外。其中 P -糖蛋白是一种由 ATP 依赖性 MDR 基因编码的相对分子质量为 170 000 的膜蛋白,存在于细胞 AP 端的细胞膜上,能将药物从肠浆膜转到肠黏膜而排入肠腔,从而导致药物吸收量减少。维拉帕米是 P -糖蛋白专属性抑制剂,因此通过对熊果酸在抑制剂维拉帕米存在与否时的跨膜转运试验,其结果表明在转运介质中加入维拉帕米后,熊果酸跨膜转运吸收方向的 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 明显上升,而其分泌方向的 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 则有所下降,PDR 由 3.445 下降至 1.386,提示 P -糖蛋白可能参与了熊果酸的外排转运过程,熊果酸可能是 P -糖蛋白的底物,但这是否为本实验中 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 大于 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 的原因,还有待后续研究来进一步验证。综合本实验研究结果,初步表明熊果酸体外摄取转运过程是以被动转运为主,同时存在 P -糖蛋白介导主动转运参与的过程。

Caco-2 细胞模型作为药物吸收研究的体外模型,是一种快速的筛选工具^[10,11],可以阐明药物分子的转运机制以及确定某些影响药物转运特性的结构特征,为药物的体外药物动力学研究提供了广阔的前景,同时也有助于改善药物的转运特性,以便增

加其吸收。特别是在中国传统药物的研究方面,由于大部分中药的具体吸收成分和机制还未明确,因此本实验建立的 Caco-2 细胞模型在中药口服吸收研究方面具有广泛的应用前景,对中药现代化具有重要意义。

参考文献:

- [1] 王 鹏,张忠义,吴 忠,等.熊果酸在药用植物中的分布及药理作用[J].中草药,2000,23(11):717-722.
- [2] 程晓华,熊玉卿.五环三萜皂苷的药理作用研究进展[J].中草药,2007,38(5):792-795.
- [3] Jeong H G, Kim H G, Hwang Y P. Involvement of cytokines in the hepatic expression of metallothionein by ursolic acid[J]. *Toxicol Lett*, 2005, 155: 369-376.
- [4] Yan F L, Wang A X, Jia Z J. Pentacyclic triterpenoids from *Aster ageratoides* var. *pilosus* [J]. *Pharmazie*, 2004, 59(11): 882-884.
- [5] Liao Q F, Yang W, Jia Y, et al. LC-MS Determination and pharmacokinetic studies of ursolic acid in rat plasma after administration of the traditional Chinese medicinal preparation Lu-Ying extract [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2005, 125(6): 509-515.
- [6] Van Breemen R B, Li Y. Caco-2 cell permeability assays to measure drug absorption [J]. *Exp Opin Drug Metab Toxicol*, 2005, 1(2): 175-185.
- [7] Balimane P V, Chong S. Cell culture-based models for intestinal permeability: a critique [J]. *Drug Discov Today*, 2005, 10(5): 335-343.
- [8] He Y, Zeng S. Determination of the stereoselectivity of chiral drug transport across Caco-2 cell monolayers [J]. *Chirality*, 2006, 18(1): 64-69.
- [9] 胡晓渝,姚彤炜,曾 苏. Caco-2 细胞系及其在药物吸收、代谢中的应用[J].中国现代应用药学杂志,2002,19(2): 88-90.
- [10] 杨秀伟,张 鹏,吴 琦.羌活中二氢呋喃类香豆素在人源肠 Caco-2 细胞单层模型的吸收转运研究[J].中草药,2009,40(5): 748-753.
- [11] 卢智玲,冯 怡,徐德生,等. Caco-2 细胞模型在中药口服吸收及机制研究中的应用[J].中草药,2006,37(4): 616-619.

禹白附提取物抗 HIV 病毒的实验研究

温瑞兴*,马洪涛,王晓艳,王 霞,杨怡姝,王小利

(北京工业大学生命科学与工程学院,北京 100124)

摘 要:目的 研究白附子提取物抗 HIV-1 的作用,寻找新型高效的抗 HIV-1 中药先导化合物。方法 采用植物化学技术对白附进行提取分离,再通过细胞生物学方法[细胞病变观察法(CPE)法和 MTT 法]检验提取物的抗 HIV-1 作用,并结合作用靶点的研究对提取物的作用机制进行探讨。结果 发现禹白附提取物具有很好的抗

收稿日期:2009-03-21

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7092007)

作者简介:温瑞兴(1953—),男,北京人,研究员,硕士生导师,长期从事药理学、抗病毒药理学研究和教学工作,发表论文 40 余篇,获国家、省部级奖(参加)两项。Tel: (010) 67391668 Fax: (010) 67392001 E-mail: rxwen@bjut.edu.cn

* 通讯作者 温瑞兴 Tel: (010) 67391668 E-mail: rxwen@bjut.edu.cn