

改善葛根素肠道吸收的体外研究

李 林^{1,2}, 张 琼³, 杨志建², 陆 阳^{1*}

1. 上海交通大学医学院 药理学系, 上海 200025

2. 联合利华上海研究所, 上海 200335

3. 华东理工大学生物工程学院, 上海 200237

摘 要: **目的** 研究葛根素肠道吸收的机制, 探讨提高其肠道吸收的方法。**方法** 改变实验时间、温度及药物质量浓度, 考察葛根素在 Caco-2 细胞中的转运特性, 并考察不同的吸收促进剂对其跨膜转运的影响。**结果** 葛根素的膜渗透性低, 被动扩散是其跨膜转运的主要机制; 十二烷基磺酸钠 (SDS) 破坏 Caco-2 单细胞层的完整性, 提高葛根素转运; 聚氧乙烯月桂基醚 (Brij 35)、牛血清白蛋白 (BSA) 和分离乳清蛋白对葛根素转运有促进作用, 但不影响 Caco-2 细胞的跨膜电阻 (TEER); 相对分子质量较高的壳聚糖通过可逆性地降低 TEER, 促进细胞间转运, 提高葛根素的膜渗透性。**结论** 葛根素的膜渗透性低是口服生物利用度低的主要原因, 不同吸收促进剂可通过不同机制改善其膜渗透性。

关键词: 葛根素; 肠道吸收; 生物利用度; Caco-2 细胞; 膜渗透性

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)11-2265-05

In vitro investigation on improvement in puerarin intestinal absorption

LI Lin^{1,2}, ZHANG Qiong³, YANG Zhi-jian², LU Yang¹

1. Department of Pharmacy, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

2. Unilever R&D Shanghai Institute, Shanghai 200335, China

3. College of Bioengineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

Abstract: Objective To study the mechanism of puerarin (PE) intestinal absorption and investigate the possible methods to improve its intestinal absorption. **Methods** The characteristics of PE transport across Caco-2 cell monolayer were determined by changing incubation time, temperature, and PE concentration. The effect of different absorption enhancers on its membrane transport permeability was studied as well. **Results** The intestinal permeability of PE was low and the passive diffusion was the main mechanism for its transport across Caco-2 cells. Sodium dodecyl sulfate (SDS) improved PE transport by impairing the integrity of Caco-2 cell monolayer. Brij 35, bovine serum albumin (BSA), and whey protein isolation promoted the PE transport, without affecting the transepithelial electric resistance (TEER) of Caco-2 cells. Chitosan of relatively high molecular weight reversibly lowered TEER, thereby improving PE intercellular transport. **Conclusion** The low peroral bioavailability of PE is probably due to its low membrane permeability. The different absorption enhancers could improve its membrane transport permeability across Caco-2 cells via diverse mechanisms.

Key words: puerarin (PE); intestinal absorption; bioavailability; Caco-2 cells; membrane permeability

葛根素 (puerarin, PE) 具有多种药理活性, 如抗心律失常、降血压、抗心肌缺血、改善微循环等^[1-2], 但口服吸收不完全、生物利用度较低^[3]。目前较少见对葛根素肠道吸收机制的深入研究, 且已有实验研究的结论不尽相同。本实验运用 Caco-2 细胞模型^[4-5]对葛根素跨膜转运机制进行研究, 并进一步考察多种

吸收促进剂和赋型剂对葛根素渗透性的影响, 为合理设计改善葛根素肠道吸收的药物配方提供参考。

1 材料

1.1 细胞

Caco-2 细胞购于美国 Type Culture Collection 公司。

收稿日期: 2011-05-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30672441, 30873057)

作者简介: 李 林 (1974—), 女, 博士, 研究方向为天然产物的药理活性及生物利用度。

Tel: (021)22125913 Fax: (021)22125052 E-mail: happy.li@unilever.com

*通讯作者 陆 阳 Tel: (021)63846590-776466 E-mail: huaxue@shsmu.edu.cn; luyangssmu@yahoo.com

1.2 药品与主要试剂

葛根素 (质量分数 > 98%), 批号 0611924, Sigma 公司。十二烷基磺酸钠 (SDS)、二甲基亚砜 (DMSO)、牛血清白蛋白 (BSA)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、聚山梨酯 80、聚维酮、聚乙二醇 400、4-羟乙基哌嗪乙磺酸 (HEPES, 美国 Sigma 公司); 聚氧乙烯月桂基醚 (Brij 35, 美国 Croda 公司); BiPRO® 分离乳清蛋白 (美国 Davisco 公司); Hank's 缓冲液 (HBSS) 及细胞培养试剂 (美国 Invitrogen 公司); 壳聚糖及其衍生物由上海交通大学药学院药物控制释放技术与医用高分子课题组提供, 包括相对分子质量为 1×10^6 (壳聚糖 1)、 2×10^5 (壳聚糖 2)、 6×10^3 (壳聚糖 3) 的 3 种壳聚糖和季铵盐取代度为 44% 的羟丙基三甲基氯化铵壳聚糖 (HACC)。乙醇、丙二醇、乙腈、三氟乙酸为国产分析纯。

1.3 主要仪器

生物安全柜 (美国 Labconco 公司), CO_2 培养箱 (美国 Thermo 公司), Coulter Counter® 细胞计数仪 (美国 Beckman 公司), EVOM™ 上皮细胞电位测试仪 (美国 World Precision Instruments 公司), Safire 2™ 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司), ACQUITY™ 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), 24-well HTS Insert System (美国 BD Biosciences 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

Caco-2 细胞用含 20% 胎牛血清、1% 非必需氨基酸、1% 青霉素/链霉素的高糖 DMEM, 于 37°C 、5% CO_2 条件下培养, 第 20~35 代细胞用于实验。

2.2 葛根素溶液的配制

精密称取葛根素适量, 用转运缓冲液 (即含 25 mmol/L HEPES 的 HBSS, pH 7.4) 溶解, 制备 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 葛根素溶液。

2.3 葛根素肠道转运机制

Caco-2 细胞接种于 24-well HTS insert system ($10^6/\text{cm}^2$), 分化 21 d。测定葛根素从供给池 (AP) 向接收池 (BL) 转运时, AP 中加入 0.3 mL 葛根素溶液, BL 中加入 1 mL 转运缓冲液 (含 25 mmol/L HEPES 的 Hank's 缓冲液, pH 7.4); 测定葛根素从 BL 向 AP 转运时, BL 中加入 1 mL 葛根素溶液, AP 中加入 0.3 mL 转运缓冲液; 于 37°C 孵育 2 h 或 4 h (在 4°C 条件下进行转运实验时, 细胞及溶液应于 4°C 预平衡)。每隔 30 min 将转运池移至加有新鲜转运缓冲液的接收板中。培养结束时收集初

始溶液、AP 和 BL 液体, 测定葛根素浓度, 并计算表观渗透系数 (P_{app})。

$$P_{\text{app}} = (d_Q/d_t) / (A \times C_i)$$

d_Q/d_t 是单位时间待测物转运量 ($\mu\text{g/s}$), A 是转运池底聚碳酸酯膜表面积 (0.3 cm^2), C_i 是待测物的初始质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)

实验前用 MTT 法检测葛根素的细胞毒性, 以保证不破坏单细胞层的完整性。每次转运实验前后均用 EVOM™ 上皮细胞电位测试仪测定跨膜电阻 (TEER)。TEER 值大于 $210 \Omega \cdot \text{cm}^2$, 则认为 Caco-2 细胞完全分化, 可用于转运实验^[6]; 将实验后的 TEER 与实验前比较, 以判定待测物对单细胞层完整性的影响。此外, 转运实验的葛根素质量平衡应在 85%~110% 内才可认为该实验数据有效、可靠。

2.4 吸收促进剂及赋型剂对葛根素肠道渗透性的影响

采用 MTT 法测定各待测物 (吸收促进剂和赋形剂) 的细胞毒性, 根据其结果选择 2 个未显著影响细胞活力的质量浓度进行转运实验, 方法同“2.3”项。壳聚糖及其衍生物用 10 mg/mL 醋酸溶液配成 5 mg/mL 的储备液, 涡旋振荡 30 min, 使其充分溶胀。其他试剂用 PBS 配制成高浓度的储备液, 滤过除菌。进行转运实验时, 首先将葛根素 (100 $\mu\text{g/mL}$) 及待测物加入到 AP 侧, BL 侧加入转运缓冲液, 37°C 培养 2 h。培养结束时测定 TEER, 并收集初始溶液、AP 和 BL 侧液体。经壳聚糖处理的细胞, 用转运缓冲液洗两遍后, 37°C 继续培养 24 h, 于不同时间点测定 TEER, 以考察其作用是否可逆。

2.5 葛根素分析

葛根素浓度用 Waters ACQUITY® 超高压液相色谱 (UPLC) 法测定。色谱条件: 色谱柱 ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 柱温 35°C , 进样 2 μL , 检测波长 255 nm, 流动相为乙腈 (A) -0.1% 三氟乙酸水溶液 (B), 梯度洗脱, 洗脱程序: A 初始浓度 10%, 持续 0.2 min; 在 1.5 min 内升至 18%; 1.6 min 时从 18% → 85%, 持续 1 min; 随后降至 10%; 平衡 3 min 后, 开始新循环。体积流量 0.3 mL/min。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 组间比较采用单因素方差分析。转运实验前后的 TEER 值的比较采用配对 t 检验。

3 结果

3.1 葛根素的转运机制

实验结果显示, 葛根素双向转运的累积量随时

间延长而递增,且 AP→BL 和 BL→AP 的转运速率无显著差别 ($P>0.05$),提示葛根素转运无明显的方向性,且转运速率几乎恒定。结果见图 1。葛根素质量浓度从 50 $\mu\text{g/mL}$ 提高到 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, P_{app} 保持在 $7\times 10^{-7}\sim 8\times 10^{-7}\text{ cm/s}$,表明其不随葛根素质量浓度的增加而变化 ($P>0.05$),提示葛根素转运速率恒定,无明显饱和现象,即无转运体介导该过程。结果见图 2。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 时,葛根素双向转运的 P_{app} 与在 4 $^{\circ}\text{C}$ 时无显著差别 ($P>0.05$),提示葛根素转运为不需要耗能的被动转运过程。结果见图 3。

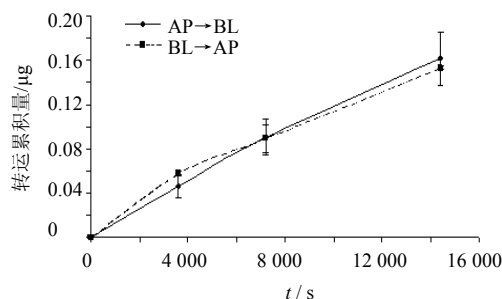


图 1 葛根素 (50 $\mu\text{g/mL}$) 在 Caco-2 单细胞层双向转运的时间曲线 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 1 Time curves of bidirection transport of PE across Caco-2 cell monolayer ($\bar{x}\pm s, n=3$)

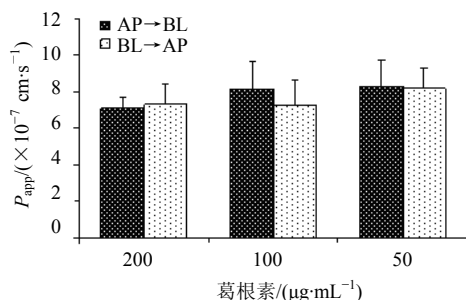


图 2 不同质量浓度葛根素在 Caco-2 单细胞层转运的 P_{app} ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 2 Transport P_{app} value of PE at different concentrations across Caco-2 cell monolayer ($\bar{x}\pm s, n=3$)

3.2 吸收促进剂或赋形剂对葛根素渗透性的影响

MTT 实验结果显示,每种待测物选取 2 个未显著影响细胞活性的浓度进行转运实验。SDS 100 $\mu\text{mol/L}$ 显著提高葛根素的 P_{app} ($P<0.01$),但 TEER 下降到实验前的 81% ($P<0.05$); SDS 50 $\mu\text{mol/L}$ 时对 P_{app} 和 TEER 的影响均不显著 ($P>0.05$),提示 SDS 的作用与其较强的表面活性作用、破坏 Caco-2 单细胞层完整性有关。Brij 35 浓度为 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时显著提高葛根素的 P_{app} ($P<0.05$),且不影响 TEER;

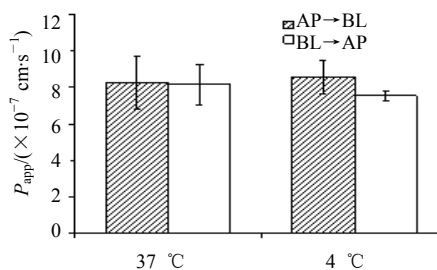


图 3 温度对葛根素 (50 $\mu\text{g/mL}$) 在 Caco-2 单细胞层转运的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 3 Effects of temperature on transport of PE (50 $\mu\text{g/mL}$) across Caco-2 cell monolayer ($\bar{x}\pm s, n=3$)

25 $\mu\text{mol/L}$ 时对 P_{app} 和 TEER 无显著影响 ($P>0.05$),这可能与在该浓度时 P_{app} 标准差较大有关。聚山梨酯 80、聚维酮、乙醇、丙二醇、DMSO 和聚乙二醇 400 对葛根素的 P_{app} 均无显著影响 ($P>0.05$)。分离乳清蛋白和 BSA 均不影响 TEER;两者在较高浓度显著提高葛根素的渗透性 ($P<0.05$),但低浓度无明显作用。结果见表 1。

3.3 壳聚糖及其衍生物对葛根素渗透性的影响

测定壳聚糖及其衍生物对葛根素渗透性的影响时,以 EDTA 作为打开细胞间紧密连接的阳性对照。EDTA 2.5 mmol/L 可显著提高葛根素的 P_{app} ($P<0.05$),而在 1.25 mmol/L 时则无此作用;这 2 个浓度均显著降低 TEER ($P<0.01$),降低程度与升高 P_{app} 的作用趋势一致。相对分子质量较大的壳聚糖 1 和壳聚糖 2 在 0.00312% 时显著提高葛根素的渗透性 ($P<0.05, 0.01$)。转运实验结束时 (2 h),壳聚糖及其衍生物均显著降低 TEER ($P<0.01$),壳聚糖 1 和壳聚糖 2 在 0.00312% 时降低 TEER 的作用最为明显,提示二者是通过降低 TEER、增加 Caco-2 细胞通透性而提高葛根素的肠道渗透性。结果见表 2。

3.4 壳聚糖及其衍生物对 TEER 影响的可逆性

在转运实验结束时 (2 h),经壳聚糖及其衍生物处理的细胞 TEER 值均显著降低 ($P<0.05$),此后 TEER 值继续下降;在实验结束后 2 h 降到最低,而后逐渐上升;在实验结束后 24 h 时,除 0.003 12% 壳聚糖 1 处理的 TEER 仅恢复至转运实验前的 79% 外,其他壳聚糖及其衍生物处理后的 TEER 均恢复到原水平的 90% 以上,表明壳聚糖降低 TEER 的作用是可逆的,提示其对肠道细胞损伤较小,较安全,见表 3。

4 讨论

在体肠循环法实验中,葛根素的吸收机制表现

表 1 吸收促进剂对 Caco-2 细胞 TEER 和葛根素 (100 μg/mL) 渗透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of absorption enhancers on TEER of Caco-2 cell and permeability of PE (100 μg/mL) across Caco-2 cell monolayer ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

测试物	转运前后 TEER 比值/%	$P_{app}/(\times 10^{-7} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$
葛根素	104±6	6.64±0.40
葛根素+100 μmol·L ⁻¹ SDS	81±1**	11.87±0.03**
葛根素+50 μmol·L ⁻¹ SDS	95±1	9.76±1.29
葛根素+25 μmol·L ⁻¹ Brij35	96±2	8.85±1.15
葛根素+12.5 μmol·L ⁻¹ Brij 35	103±0	8.76±0.31*
葛根素+0.25%聚山梨酯 80	97±1	8.38±2.18
葛根素+0.125%聚山梨酯 80	106±3	6.81±0.49
葛根素+1%聚维酮	101±3	6.31±0.22
葛根素+0.5%聚维酮	109±2	6.72±0.27
葛根素+2%乙醇	100±4	8.38±0.22
葛根素+2%丙二醇	103±1	7.53±1.15
葛根素+1%丙二醇	102±5	7.97±1.60
葛根素+2% DMSO	92±1	7.34±0.00
葛根素+1% DMSO	100±2	5.81±1.29
葛根素+2%聚乙二醇 400	78±1*	7.78±1.07
葛根素+1%聚乙二醇 400	86±6	6.97±0.18
葛根素+0.2%分离乳清蛋白	100±1	8.38±0.22*
葛根素+0.1%分离乳清蛋白	98±2	8.32±0.67
葛根素+1.36% BSA	99±3	8.10±0.36*
葛根素+0.68% BSA	102±2	7.66±0.89

与葛根素比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$, 下表同

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs puerarin, same as below

表 2 壳聚糖及其衍生物对 Caco-2 细胞 TEER 和葛根素 (100 μg/mL) 渗透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of chitosan and its derivatives on TEER of Caca-2 cell and permeability of PE (100 μg/mL) across Caca-2 cell monolayer ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

测试物	转运前后 TEER 比值/%	$P_{app}/(\times 10^{-7} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$
葛根素	95±1	7.23±0.42
葛根素+0.00312%壳聚糖 1	50±2**	9.91±0.50**
葛根素+0.00156%壳聚糖 1	61±2**	7.58±0.02
葛根素+0.00312%壳聚糖 2	50±0**	10.03±0.67*
葛根素+0.00156%壳聚糖 2	69±5**	7.33±1.37
葛根素+0.00312%壳聚糖 3	75±4**	6.56±0.85
葛根素+0.00156%壳聚糖 3	75±2**	5.46±0.18*
葛根素+0.00312% HACC	87±4*	6.88±1.01
葛根素+0.00156% HACC	86±1**	5.06±0.46*
葛根素+2.5 mmol·L ⁻¹ EDTA	65±1**	9.30±0.49*
葛根素+1.25 mmol·L ⁻¹ EDTA	79±1**	8.66±1.52

为被动扩散^[7]; 采用大鼠离体肠段的肠管外翻模型的实验则表明, 葛根素在各肠段的吸收可能存在主动转运的过程^[8]; 而应用 Caco-2 细胞模型的实验结果表明, 葛根素在 100~500 μg/mL 时, 其转运可能存在 P-糖蛋白的外排作用^[9]。本研究为保证 Caco-2 单层细胞的完整性, 采用较低的葛根素质量浓度, 结果发现葛根素 50 μg/mL 在 Caco-2 单细胞层的转运中无明显的方向性, 且双向转运速率不随其质量

表 3 壳聚糖及其衍生物在不同时间点对经葛根素 (100 μg/mL) 处理的 Caco-2 细胞 TEER 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of chitosan and its derivatives at different time points on TEER of Caca-2 cell treated by PE (100 μg/mL) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

测试物	转运前后 TEER 比值/%				
	2 h	4 h	6 h	20 h	26 h
转运缓冲液	93±2	84±0	88±2	94±0	96±2
葛根素	94±1	87±1	86±1	94±2	97±3
葛根素+0.00312%壳聚糖 1	50±2	41±2	45±5	71±3	79±5
葛根素+0.00156%壳聚糖 1	61±2	52±2	56±5	84±5	92±5
葛根素+0.00312%壳聚糖 2	50±0	49±2	54±2	90±2	98±3
葛根素+0.00156%壳聚糖 2	69±5	71±5	79±6	109±2	109±2
葛根素+0.00312%壳聚糖 3	75±4	62±3	67±4	85±3	92±2
葛根素+0.00156%壳聚糖 3	75±2	67±4	72±4	92±1	97±1
葛根素+0.00312% HACC	87±4	56±6	62±5	85±2	90±5
葛根素+0.00156% HACC	86±1	65±2	71±1	86±1	92±5
葛根素+2.5 mmol·L ⁻¹ EDTA	65±1	62±2	69±2	90±1	97±1
葛根素+1.25 mmol·L ⁻¹ EDTA	79±1	81±4	88±2	98±3	100±3

浓度、温度的变化而变化,提示此质量浓度的葛根素肠道吸收的主要机制为被动扩散。

药物口服生物利用度不仅与其肠道吸收的量有关,而且还与肠道及肝脏的代谢等因素有关。葛根素是碳糖苷黄酮类化合物,不易被肠道菌群、小肠上皮细胞和肝细胞代谢,无双相吸收^[10-11],因此其口服生物利用度主要与肠道吸收相关。采用 Caco-2 细胞进行实验所测定的葛根素膜渗透性,可较为准确地预测其在不同剂型或药物配方中的口服生物利用度。本实验结果还表明,聚维酮、乙醇、DMSO、丙二醇和聚乙二醇 400 等增溶剂对葛根素渗透性无显著影响,提示增溶剂对于类水溶性较好、但膜渗透性较差的药物的吸收无作用。SDS、Brij 35、BSA 和分离乳清蛋白均可提高葛根素的渗透性。SDS 促吸收作用强但毒性大,主要作用机制可能是溶解肠黏膜成分;Brij 35 作用机制与 SDS 相似,但可在不影响 TEER 值的情况下,显著提高葛根素的渗透性,提示 Brij 35 作用较 SDS 温和,对胃肠道的刺激性较小;值得注意的是,目前关于分离乳清蛋白和 BSA 提高葛根素肠道吸收的研究鲜见报道,它们对葛根素影响的机制可能是葛根素通过疏水相互作用等非共价作用与 BSA 形成复合物^[12],促进细胞对葛根素的摄取,但该假设需通过实验进行验证。

壳聚糖作为吸收促进剂具有作用可逆、黏膜毒性小、自身不被吸收、较安全等优点,作用机制可能是通过其阳离子部分与细胞膜表面糖蛋白中阴离子部分相互作用,可逆地打开细胞间紧密连接而增加其旁转运^[13]。影响壳聚糖作用的因素包括其相对分子质量和脱乙酰度、壳聚糖上氨基的取代基团等。本实验结果表明,相对分子质量较大的壳聚糖 1 和 2 显著提高葛根素的渗透性,且与其降低 TEER 值的程度相关;而相对分子质量较小的壳聚糖 3 则无此作用,这与 Schipper 等^[14]研究结果,即脱乙酰度较低(51%~65%)时,只有相对分子质量较高的壳聚糖可促进 ¹⁴C-甘露醇透过 Caco-2 细胞相一致。此外,本实验结果还表明 HACC 降低 TEER 的作用及促渗透作用均较其前体壳聚糖 2 明显减弱,提示羟丙基三甲基氯化铵单取代并不能增强壳聚糖的吸收促进作用。

吸收促进剂长期使用的安全性仍存在较大争议,对其安全性的担忧主要是因为其扰乱肠黏膜屏障后,肠道内毒素及其他化学物质有可能被吸收入血循环而产生不良反应。水杨酸及其钠盐、胆酸

盐、吩噻嗪等药物和某些螯合剂如柠檬酸,也可明显扰乱肠上皮细胞,但未见其相对大剂量的长期服用中有胃肠毒素吸收而导致的不良反应的报道^[15]。由此可见,吸收促进剂的毒性和吸收促进作用是可以分开的,但长期应用的安全性还需通过慢性毒理学研究进行考察。

参考文献

- [1] 李娟,胡永华.葛根素对人小细胞肺癌 H446 细胞周期和相关周期蛋白表达的影响[J].中草药,2008,39(10):1535-1537.
- [2] 曹莉,顾振纶,茅彩萍.葛根素对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的影响[J].中草药,2006,37(6):901-904.
- [3] 高凤英.葛根素药理作用的研究进展[J].中草药,2003,34(12):附7-附8.
- [4] 李苏宁,杨秀伟.6个线型呋喃香豆素类化合物在人源肠 Caco-2 细胞模型的吸收转运研究[J].中草药,2011,42(1):96-102.
- [5] 祝诚诚,何新.药物肠道吸收研究方法[J].药物评价研究,2010,33(3):222-227.
- [6] Mac Callum A, Hardy S P, Everest P H. Campylobacter jejuni inhibits the absorptive transport functions of Caco-2 cells and disrupts cellular tight junctions[J]. Microbiology, 2005, 151(7): 2451-2458.
- [7] 周冬菊,赵会英,杨英禄.大鼠小肠对葛根素吸收的动力学研究[J].北京化工大学学报,2006,33(5):106-112.
- [8] 崔升森,赵春顺,何仲贵.大鼠肠管外翻模型对葛根素吸收机制的研究[J].时珍国医国药,2008,19(7):1715-1716.
- [9] 崔升森,赵春顺,何仲贵.葛根素在 Caco-2 细胞模型中的吸收特性[J].中草药,2007,38(6):836-839.
- [10] 朱容慧,赵军宁,毕岳琦.中药肠吸收动力学的研究进展[J].药物评价研究,2010,33(1):25-29.
- [11] Simons A L, Renouf M, Hendrich S, et al. Human gut microbial degradation of flavonoids: structure-function relationship[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(10): 4258-4263.
- [12] Xiao J B, Shi J, Cao H, et al. Analysis of binding interaction between puerarin and bovine serum albumin by multi-spectroscopic method[J]. J Pharm Biomed, 2007, 45(4): 609-615.
- [13] 林晓,徐德生,冯怡.大分子药物肠道吸收促进剂的研究进展[J].中国药学杂志,2003,38(10):741-744.
- [14] Schipper N G, Olsson S, Hoostraate J A, et al. Chitosan as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 2: mechanism of absorption enhancement[J]. Pharm Res, 1997, 14(7): 923-929.
- [15] Fix J A. Strategies for delivery of peptides utilizing absorption-enhancing agents[J]. J Pharm Sci, 1996, 85(12): 1282-1285.