

黄连多组分在 Caco-2 细胞单层模型的吸收及其相互作用

戚娟^{1,2}, 郭涛², 李海燕², 张学举^{2,3}, 殷宪振², 葛卫红^{1*}, 张继稳^{2*}

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203

3. 吉林大学, 吉林 长春 130021

摘要:目的 研究黄连水提取物中多组分的不同组合与吸收的相关性,探索甄别中药多组分吸收相互影响的方法。方法 采用 Caco-2 细胞单层模型,以黄连水提取物中的多组分及其不同组合为受试药物,通过 HPLC 法对各组分同时进行定量,以各组分单独转运时的固有表观渗透系数作为参照,采用最小二乘法多元线性回归进行拟合,获得各组分间表观渗透系数的作用强度与各组分浓度及其不同组合间的相关性,分析多组分在吸收中的相互作用类型及强度。结果 甄别出黄连碱、药根碱、小檗碱和巴马汀跨 Caco-2 细胞单层膜吸收的相互作用,得到影响各组分吸收的单组分因素和多组分组合因素,获得影响其吸收的定量关系。结论 本实验采用数学方法研究黄连多组分在吸收中的相互作用切实可行。

关键词: 黄连水提取物; Caco-2 细胞单层模型; 多组分相互作用; 表观渗透系数; 数据拟合

中图分类号: R969.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)13-1801-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.018

Absorption of multi-components from *Coptidis Rhizoma* in Caco-2 monolayer model and their interactions

QI Juan^{1,2}, GUO Tao², LI Hai-yan², ZHANG Xue-ju^{2,3}, YIN Xian-zhen², GE Wei-hong¹, ZHANG Ji-wen²

1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

3. Jilin University, Changchun 130021, China

Abstract: Objective To research the correlation between compositions and absorption of the multi-components in *Coptidis Rhizoma* and to explore the methods suitable for identifying the interactions of multi-components in *Coptidis Rhizoma* during the absorption process. **Methods** Samples of various compositions by their different combinations of each component in *Coptidis Rhizoma* were designed and prepared using Caco-2 monolayer model. Using HPLC method for the simultaneous quantitative determination, taking the inherent apparent permeability coefficients (P_{app}) by the individual transport of each component as reference, the least square multi-linear regression was used for data fitting to obtain the correlation between interaction intensity of P_{app} and concentration of each component by their different combinations and to analyze the interaction type and intensity of multi-components during the absorption. **Results** The quantitative relationship of multi-component interactions for coptisine, jatrorrhizine, berberine, and palmatine was obtained, respectively. The main contributors for the multi-component interaction, including single component and interactive products of the different components, were also identified. The quantitative relationship affecting the absorption was also obtained. **Conclusion** A well-designed method for studying the multi-component interactions of *Coptidis Rhizoma* using mathematical method is practicable.

Key words: aqueous extract of *Coptidis Rhizoma*; Caco-2 monolayer model; multi-component interactions; apparent permeability coefficient; data fitting

吸收是影响药效的关键因素,是药物分布、代谢以及排泄的基础。中药无论是单味药还是复方,均含有众多化学成分,多组分是中药制剂的基本特征^[1]。仅通过单体成分的吸收特征来阐明中药复方

收稿日期: 2013-02-03

基金项目: 国家科技重大专项资助项目(2012ZX09301001-001)

作者简介: 戚娟(1986—),女,安徽淮北人,硕士,主要从事中药药理及新产品研发。Tel: 18221465209 E-mail: qijuanqueen@163.com

*通信作者 葛卫红 Tel: 13906522241 E-mail: geweihong@hotmail.com

张继稳 Tel/Fax: (021)50805901 E-mail: jwzhang@mail.shnc.ac.cn

的吸收情况,容易忽略其他组分的影响,不能真实地反映中药多组分在机体内的吸收特点^[2-3]。

人结肠癌 Caco-2 细胞的结构和生化特征类似于小肠上皮细胞,药物在其中的吸收与在小肠中的吸收相关性好,与动物实验相比,更加省时,且此细胞易于培养,生命力强,影响因素少,因此常用该模型研究中药的肠吸收^[4-5]。Caco-2 细胞模型可以区分肠腔内不同吸收途径的差别,减少了组织损伤引起的实验差异。黄连为常用中药,黄连生物碱在 Caco-2 细胞单层模型上的转运研究多集中在其单一成分的肠道转运特征及肠道吸收机制方面^[5,6-9],而对于其多组分间的相互作用鲜有报道。本实验采用 Caco-2 细胞单层模型,借助数学分析方法甄别多组分间的相互作用,探讨黄连水提取物中多组分的不同组合与吸收的相关性,为中药多组分在吸收中相互影响提供实验依据和研究思路。

1 材料

1.1 药品与试剂

黄连 *Coptidis Rhizoma*, 购于上海养和堂医保门店,经中国科学院上海药物研究所张继稳教授鉴定为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎。24 孔聚碳酸酯膜转运小室,美国 Millipore 公司;DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)、非必需氨基酸、胰蛋白酶、羟乙基哌嗪乙磺酸,美国 Gibco 公司;Hank's 平衡盐溶液(HBSS)、青霉素、链霉素,美国 Sigma 公司;阿替洛尔(100117-200504)、普萘洛尔(100783-200401),上海食品药品检验所,质量分数>98%;甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Thermo forma 3111 CO₂ 培养箱,美国 Thermo

公司;BHC—1300II B2 生物安全柜,苏州安泰空气技术有限公司;TS—100F 倒置显微镜,日本 Nikon 公司;Millicell—ERS2 跨膜电阻仪,美国 Millipore 公司;Agilent 6460 三重串联四极杆液质联用仪、Agilent Infinity 1290 高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;HWS—12 电热恒温水浴锅、DZF 6050 真空干燥箱,上海一恒科技有限公司;THZ—D 气浴恒温振荡器,太仓市实验设备厂;IKA RV10 数显型 D 旋转蒸发仪,德国 IKA 公司;LDZX—50KAS 蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂。

1.3 细胞

Caco-2 细胞,来源于中国科学院上海细胞库,本实验所使用其 44~49 代。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 黄连水提取物的制备 精密称取黄连药材粉末(过 60 目筛)6 g,置 500 mL 圆底烧瓶中,加 8 倍量纯水,100 °C 提取,共提取 3 次,每次约 1 h。合并滤液,加入无水乙醇至含醇量为 80%,密封,4 °C 放置过夜,取上清液,过 0.45 μm 滤膜,80 °C 旋转蒸发至干^[8]。用纯水分次将固形物洗入 50 mL 量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,得 120.12 mg/mL 黄连水提取物储备液(以黄连药材计)。

2.1.2 黄连水提取物单组分的分离制备 采用“2.2.1”项下色谱条件分离制备黄连水提取物各单组分,检测器后收集流分,按出峰顺序编号为 A、B、C、D、E(图 1-b)。定量汇集各单组分流分,80 °C 旋转蒸发至干,30 °C 真空干燥 12 h,固形物分别以 HBSS 复溶,溶液转入 10 mL 量瓶中,加 HBSS 定容至刻度,摇匀,分别得 18.02 mg/mL(以黄连药材计)的单组分储备液。

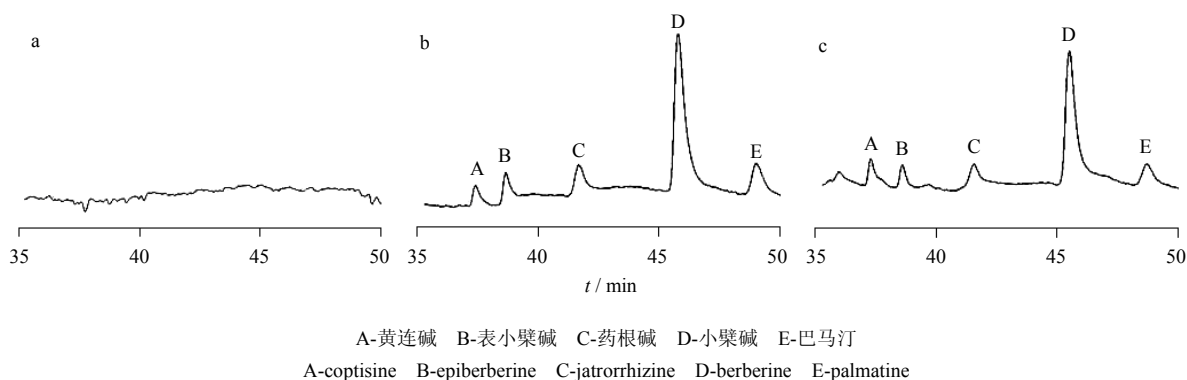


图 1 空白 HBSS 液 (a)、黄连多组分混合液 (b)、多组分跨膜转运样品 (c) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank HBSS (a), mixture of multi-components in *Coptidis Rhizoma* (b), and sample after transmembrane transport (c)

2.2 分析方法的建立

2.2.1 色谱条件^[10-11] Phenomenex Luna C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (冰醋酸调节 pH 3.0), 梯度洗脱 (0~30 min, 5%~30% 甲醇; 30~60 min, 30% 甲醇), 体积流量 0.5 mL/min, 柱温 20 °C, 检测波长 270 nm, 进样量为 20 μL。

2.2.2 质谱条件 离子源为 ESI 源; 检测模式为正离子; 全扫描方式, 扫描范围: m/z 100~600; 毛细管电压为 4 000 V; 电子倍增器电压 (Δ EMV) 为 200 V; 鞘气 (N₂) 体积流量为 11 L/min, 温度 350 °C; 辅助气体积流量 10 L/min, 温度 350 °C; 碎裂电压 (Fragmentor) 为 200 V; 采用自动进样器直接进样。取黄连各单组分储备液进行质谱全扫描, 并记录谱图。

各单组分储备液进行 ESI-MS 全扫描, 并与文献报道值进行比对, 确定 m/z 319.8 为黄连碱的准分子离子峰 $[A+H]^+$, m/z 337.9 为药根碱的准分子离子峰 $[C+H]^+$, m/z 351.9 为巴马汀的准分子离子峰 $[E+H]^+$ 。而表小檗碱和小檗碱的相对分子质量相同, 所得准分子离子峰 $[C+H]^+$ 相同, m/z 均为 335.9。进一步对二者进行子离子扫描, D 含有子离子 277.8, 而 B 没有, 参照文献确定 A 为黄连碱, B 为表小檗碱, C 为药根碱, D 为小檗碱, E 为巴马汀^[12-13]。

2.2.3 方法学考察

经线性关系考察, 得各组分线性方程: 黄连碱为 $Y=178.0X-2.12$ ($r=0.9993$); 表小檗碱为 $Y=277.7X-1.63$ ($r=0.9996$); 药根碱为 $Y=241.8X-3.42$ ($r=0.9974$); 小檗碱为 $Y=1520.6X-2.20$ ($r=0.9994$); 巴马汀为 $Y=394.7X-12.36$ ($r=0.9956$); 线性范围均为 0.01~1.80 mg/mL, 表明在此浓度范围内线性关系良好。专属性试验结果表明, 空白 HBSS 液及细胞中的杂质对多组分样品溶液的测定无干扰, 专属性良好 (图 1)。精密度试验结果表明, 黄连多组分混合溶液 0.02、0.10、0.05 mg/mL 中黄连碱精密度的 RSD 值分别为 1.41%、3.67%、4.61%; 表小檗碱分别为 1.65%、3.06%、4.33%; 药根碱分别为 0.55%、4.22%、2.92%; 小檗碱分别为 0.46%、1.95%、3.48%; 巴马汀分别为 1.28%、3.09%、4.26%。稳定性试验结果表明, 多组分样品溶液在 48 h 内稳定。

2.3 黄连多组分在 Caco-2 细胞单层转运实验

2.3.1 样品溶液制备 精密吸取所需体积 (V) 的

单组分储备液于 15 mL 离心管中, 补加相应体积的 HBSS (表 1), 涡旋 60 s, 即得不同浓度组合的多组分溶液。

表 1 黄连多组分不同浓度水平混合溶液的配制

Table 1 Preparation of mixture of multi-components in *Coptidis Rhizoma* at different concentration

样品 编号	V_A / mL	V_B / mL	V_C / mL	V_D / mL	V_E / mL	V_{HBSS} / mL
1	—	0.2	0.2	0.2	0.2	1.2
2	0.2	—	0.2	0.2	0.2	1.2
3	0.2	0.2	—	0.2	0.2	1.2
4	0.2	0.2	0.2	—	0.2	1.2
5	0.2	0.2	0.2	0.2	—	1.2
6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	1.0
7	0.4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.8
8	0.2	0.4	0.2	0.2	0.2	0.8
9	0.2	0.2	0.4	0.2	0.2	0.8
10	0.2	0.2	0.2	0.4	0.2	0.8
11	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4	0
12	0.2	—	—	—	—	1.8
13	—	0.2	—	—	—	1.8
14	—	—	0.2	—	—	1.8
15	—	—	—	0.2	—	1.8
16	—	—	—	—	0.2	1.8

2.3.2 Caco-2 细胞单层模型的建立 将 Caco-2 细胞培养于含 10% 胎牛血清 (FBS)、1% 非必需氨基酸、1% 谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素和 500 mg/L 链霉素双抗液的 DMEM 培养液中, 培养瓶置 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。隔天换液, 细胞生长至约 80% 融合时用胰蛋白酶消化, 得细胞混悬液。向 Transwell 培养板 (孔径 0.4 μm, 表面积 0.6 cm²) 的上室加入 400 μL 已充分混合的细胞悬浮液 (密度为 1×10^5 /cm²), 下室加入 600 μL 完全 DMEM 培养液, 放入 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。接种后隔天换液, 1 周后每天换液。单层细胞于 19~21 d 分化形成, 每 3 d 用跨膜电阻仪检测单层细胞的跨膜电阻, 各孔均大于 300 Ω·cm², 且用阿替洛尔和普萘洛尔对所建 Caco-2 细胞单层模型进行验证^[9, 14-22], 所得结果与文献具有可比性, 说明同批建立的细胞模型具有良好的完整性, 可用于转运实验。

2.3.3 Caco-2 细胞转运实验 取培养 20 d 并验证模型制备成功的 Caco-2 细胞单层置 Transwell 培养板中, 用 37 °C 的 HBSS (pH 7.4, 含 10 mmol/L 的

羟乙基哌嗪乙硫磺酸)溶液洗涤3次,置培养箱中孵育30 min,吸弃HBSS溶液。将药液(1.8 mg/mL,水提液Caco-2细胞毒性实验确定^[23])400 μL加到肠腔侧作为供给池(AP),同时基底侧加入HBSS溶液600 μL作为接收池(BL),Transwell培养板置转速为50 r/min的37℃恒温摇床中,分别在载药后60、90、120、150、180 min从接收池取样100 μL,同时补足同体积的HBSS溶液。取“2.3.1”项下样品溶液进行细胞转运实验($n=3$)^[24]。

2.3.4 表观渗透系数计算 参考Artursson等^[24]的方法,计算各组分在Caco-2细胞单层中的表观渗透系数(P_{app})。

$$P_{app} = \Delta Q / (\Delta t \cdot A \cdot C_0)$$

Q 为药物的累积转运量(mg); $\Delta Q/\Delta t$ 为转运速率(mg/s); C_0 为药物在肠腔侧的初始质量浓度(mg/mL); A 为细胞单层的表面积(cm^2)

按照表1方案进行转运实验后,得黄连各组分在Caco-2细胞单层的 P_{app} (表2)。结果表明,黄连多组分的 P_{app} 在 $3.90 \times 10^{-6} \sim 15.66 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$,属于中等至较强的吸收。以5个组分混合转运作为对照组,分析不同组合共同转运,可见任意组分质量

浓度的降低均导致其余组分 P_{app} 的增加,可见多组分之间存在着相互抑制作用;增加任意组分的质量浓度, P_{app} 也随之增加,表明此时多组分间的相互作用转变为促进作用。可见多组分间的相互作用较复杂,且与其浓度有关。

2.4 黄连多组分在Caco-2细胞单层模型中吸收的相互作用

2.4.1 数据处理方法 将目标组分质量浓度固定,其单独转运时的固有 P_{app} 记为 P_{app}^0 ,其他组分以不同质量浓度与目标组分进行组合后共同转运时,目标组分的 P_{app} 记为 P_{app}^i ,其他组分对目标组分 P_{app} 的变化率的影响定义为作用强度(I)。

$$I = (P_{app}^i - P_{app}^0) / P_{app}^0$$

采用基于最小二乘法的多元线性回归方法,以其他组分对目标组分 P_{app} 的作用强度 I 为因变量,以各单组分的质量浓度以及反映各组分间相互作用的多组分质量浓度乘积项为自变量,进行拟合,考察黄连多组分跨膜转运的相互作用。

设黄连中黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱和巴马汀的浓度分别为 X_A 、 X_B 、 X_C 、 X_D 、 X_E 。以黄连碱为目标组分时,其余各组分不同质量浓度与

表2 黄连各组分及其不同组合在Caco-2细胞中转运的 P_{app} (AP→BL)

Table 2 P_{app} (AP→BL) values of each component in *Coptidis Rhizoma* by their different combinations across Caco-2 cell

样品编号	$P_{app}(\text{AP} \rightarrow \text{BL}) / (\times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$				
	黄连碱	表小檗碱	药根碱	小檗碱	巴马汀
1	—	7.74±0.36**	8.19±0.10**	6.35±0.39**	9.23±0.10*
2	4.29±0.11	—	4.77±0.19	5.02±0.06**	6.66±0.27*
3	7.60±0.57**	6.35±0.55**	—	5.74±0.52*	8.90±0.158
4	10.05±0.45**	6.92±0.06**	6.72±0.68	—	10.10±0.75*
5	8.14±0.43**	7.41±0.39**	7.21±0.05*	6.15±0.16**	—
6	4.50±0.26	3.64±0.35	5.68±0.43	3.81±0.27	7.91±0.34
7	6.48±0.42**	6.50±0.47**	6.85±0.36	6.37±0.42**	8.24±0.00
8	7.03±0.49**	7.04±0.23**	7.31±0.57*	7.52±0.25**	9.52±0.57*
9	6.13±0.27**	3.64±0.06	4.17±0.14*	4.68±0.22*	8.50±0.38
10	6.89±0.31**	7.34±0.65**	6.58±0.45	5.13±0.43*	9.91±0.45*
11	6.66±0.48**	4.55±0.46	5.53±0.43	5.46±0.49*	7.13±0.19
12	15.66±0.40	—	—	—	—
13	—	10.65±0.89	—	—	—
14	—	—	5.52±0.21	—	—
15	—	—	—	3.90±0.13	—
16	—	—	—	—	9.91±0.56

与6号样品比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs sample 6

其组合时对目标组分的 I 为因变量, 自变量包括 X_B 、 X_C 、 X_D 、 X_E 以及 2 个单组分质量浓度的乘积 (X_BX_C 、 X_BX_D 、 X_BX_E 、 X_CX_D 、 X_CX_E 、 X_DX_E)、3 个单组分质量浓度乘积 ($X_BX_CX_D$ 、 $X_BX_CX_E$ 、 $X_BX_DX_E$ 、 $X_CX_DX_E$) 和 4 个单组分浓度乘积 ($X_BX_CX_DX_E$), 得初始拟合方程: $I_A = a_1X_B + a_2X_C + a_3X_D + a_4X_E + a_5X_BX_C + a_6X_BX_D + a_7X_BX_E + a_8X_CX_D + a_9X_CX_E + a_{10}X_DX_E + a_{11}X_BX_CX_D + a_{12}X_BX_CX_E + a_{13}X_BX_DX_E + a_{14}X_CX_DX_E + a_{15}X_BX_CX_DX_E$ 。

所得方程自变量的系数为正时, 表示该项对目标组分的跨膜转运具有协同作用, 自变量拟合系数为负时, 则为抑制作用, 而自变量拟合系数绝对值的大小则表示相互影响的强弱。但初始拟合方程中的自变量太多, 有必要根据各自变量的贡献程度进行筛选, 剔除贡献度低的自变量。将第 i 个自变量系数的绝对值记为 $|a_i|$, 其与所有自变量系数之和的比值定义为 Q_i , 以 Q_i 为指标 (≤ 0.03), 逐步剔除对因变量 I 影响较小的自变量, 且保证回归相关系数 $r \geq 0.95$, 以保证多项式的个数尽量少且满足回归相关性较好的拟合要求。

$$Q_i = \frac{|a_i|}{\sum_{i=1}^{n=15} |a_i|}$$

2.4.2 多组分吸收过程中相互作用分析 以黄连多组分与其他组分不同组合条件下测得 Caco-2 细胞单层 P_{app} 为基础, 确定某一组分为目标组分, 以不同组合时多组分对目标组分的 I 为因变量, 相应的其余组分的质量浓度及质量浓度的乘积项为自变量, 以各项的 Q_i 值作为判据, 逐步剔除对模型贡献较小的自变量, 直至自变量的个数较少, 且满足拟合度的要求。

(1) 对黄连碱吸收的影响: 以黄连碱为目标组分, 参照初始拟合方程, 以 Q_i 为判据, 对实验数据进行拟合, 得其余各组分对黄连碱的影响的定量关系 ($r=0.995\ 4$): $I_A = 1.40X_B - 2.88X_E + 0.62X_BX_E + 0.48X_CX_D + 0.48X_CX_DX_E - 0.75X_BX_CX_D$ 。

由该方程的系数可得各组分对黄连碱吸收的协同作用强度为 $X_B > X_BX_E > X_CX_D = X_CX_DX_E$; 抑制作用强弱度为 $X_E > X_BX_CX_D$ 。对黄连碱吸收的影响, 以巴马汀对其的抑制作用为主, 其次是表小檗碱的协同作用; 另外还有表小檗碱和巴马汀、药根碱和小檗碱、药根碱和小檗碱与巴马汀交互而产生的协同作用, 以及表小檗碱与药根碱、小檗碱交互而产生

的抑制作用, 这些交互作用在总的作用中所占的比例虽然不多 (Q_i 值分别约为 0.1), 但对整个方程的拟合度至关重要, 也正是这些多组分间的交互作用使黄连碱的吸收发生了微妙的改变。

(2) 对药根碱吸收的影响: 以药根碱为目标组分, 同法可得其余各组分与药根碱相互影响的定量关系 ($r=0.999\ 3$): $I_C = -1.46X_A - 1.12X_E + 0.76X_AX_B + 0.11X_BX_D + 0.69X_BX_E + 1.39X_DX_E - 0.84X_BX_DX_E$ 。

由该方程的系数可得各组分对药根碱吸收的协同作用强度为 $X_DX_E > X_AX_B > X_BX_E > X_BX_D$; 抑制作用强度为 $X_A > X_E > X_BX_DX_E$ 。对药根碱的吸收的影响是以黄连碱的抑制作用、小檗碱和巴马汀交互产生的协同作用为主, 其次为巴马汀、表小檗碱与小檗碱和巴马汀交互产生的抑制作用。

(3) 对小檗碱吸收的影响: 以小檗碱为目标组分, 同法可得其余组分与小檗碱的相互影响的定量关系 ($r=0.953\ 2$): $I_D = 4.44X_A + 18.84X_B - 12.45X_C - 23.23X_E + 4.30X_AX_C - 10.32X_BX_C + 19.50X_CX_E - 3.60X_AX_CX_E$ 。

由该方程的系数可得各组分对小檗碱吸收的协同作用强度为 $X_CX_E > X_B > X_A > X_AX_C$; 抑制作用强度为 $X_E > X_C > X_BX_C > X_AX_CX_E$ 。对小檗碱吸收的影响是以巴马汀的抑制作用、药根碱和巴马汀交互产生的协同作用为主, 其次为表小檗碱的协同作用, 药根碱、表小檗碱和药根碱交互产生的抑制作用。

(4) 对巴马汀吸收的影响: 以巴马汀为目标组分, 同法可得其余组分与巴马汀的影响的定量关系 ($r=0.989\ 1$): $I_E = 0.82X_A - 25.46X_B - 0.01X_C - 0.99X_D + 13.17X_AX_B + 14.43X_BX_D - 7.44X_AX_BX_D$ 。

由该方程的系数可知各组分对巴马汀吸收的协同作用强度为 $X_BX_D > X_AX_B > X_A$; 抑制作用强度为 $X_B > X_AX_BX_D > X_D > X_C$ 。对巴马汀吸收的影响是以表小檗碱的抑制作用为主, 其次为表小檗碱和小檗碱、黄连碱和表小檗碱交互产生的协同作用。

3 讨论

本实验采用 Caco-2 细胞单层模型, 借助数学分析方法, 探讨黄连水提取物中多组分吸收及相互影响, 建立多组分间对吸收影响的拟合方程, 结果表明除单组分间存在直接的影响外, 多组分间的交互作用也对各组分的吸收起着重要作用。

本实验选用最小二乘法多元线性回归对多组分的相互影响进行甄别, 优选出对吸收影响最大的因

素, 结果表明对小檗碱吸收的相互作用关系复杂, 此外对黄连碱、小檗碱、药根碱和巴马汀4种组分的吸收影响因素实现了很好的拟合 ($r > 0.95$), 采用本实验中拟合方法所得表小檗碱拟合系数不符合要求 ($r < 0.95$), 说明此法不适合表小檗碱。总之, 这种拟合方法可实现对中药多组分间的相互影响的快速甄别, 为中药多组分在吸收中相互作用的研究提供了思路和方法。

参考文献

- [1] 张继稳, 陈立兵, 顾景凯, 等. 多组分中药化合物组释放同步性评价方法 [J]. 药学学报, 2008, 43(6): 647-651.
- [2] 王燕, 赵娜, 李聪. 蛇床子中蛇床子素的大鼠单向肠灌注研究 [J]. 陕西中医, 2012, 33(9): 1235-1237.
- [3] 冯志强, 谢智勇, 廖琼峰, 等. 千层纸素A在Caco-2细胞模型中的吸收机制研究 [J]. 中南药学, 2011, 9(7): 481-485.
- [4] 张伯莎, 安歆, 王跃, 等. 黄连生物碱类成分经Caco-2细胞模型转运的协同作用研究 [J]. 中成药, 2012, 34(1): 15-19.
- [5] Walgren R A, Karnaky K J J, Lindenmayer G E, et al. Efflux of dietary flavonoid quercetin 4'-beta-glucoside across human intestinal Caco-2 cell monolayers by apical multidrug resistance-associated protein-2 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 294(3): 830-836.
- [6] 朱容慧, 赵军宁, 华岳琦, 等. 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.
- [7] 张新峰, 裘福荣, 蒋健, 等. 左金丸类方的小檗碱、巴马汀、黄连碱和药根碱在Caco-2细胞转运的比较研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(5): 999-1003.
- [8] 曾晓会, 涂瑶生, 孙冬梅, 等. 黄连吴茱萸药对在Caco-2单层细胞模型中的跨膜转运研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 9-11.
- [9] 谢赞, 蒋晔, 郝晓花, 等. 反相高效液相色谱法测定人血浆中阿替洛尔的浓度 [J]. 中国药师, 2005, 8(10): 832-834.
- [10] 马莲, 杨秀伟. 盐酸黄连碱和小檗红碱在来源Caco-2细胞单层模型中的吸收研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2523-2527.
- [11] Liu C H, Jiang Z Z, Huang X, et al. Cellular absorption of emodin influenced by anthraquinones in human intestinal Caco-2 cells [J]. *Chin J Nat Med*, 2008, 6(4): 298-301.
- [12] 王道武, 庞雪, 赵全成, 等. 黄连生物碱的反相高效液相-电喷雾离子阱串联质谱的研究 [J]. 分子科学学报, 2011, 27(3): 189-193.
- [13] 陈军辉, 赵恒强, 李文龙, 等. 高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱联用分析黄连中的生物碱 [J]. 化学学报, 2007, 65(23): 2743-2749.
- [14] 赵纯玉, 王玲, 易燕群. HPLC法测定盐酸普萘洛尔片的含量 [J]. 首都医药, 2011, 9(18): 59-60.
- [15] Wang Y, Wu Q, Yang X W, et al. The membrane transport of flavonoids from *Crossostephium chinense* across the Caco-2 monolayer [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2011, 32(1): 16-24.
- [16] Kataoka M, Masaoka Y, Yamazaki Y, et al. *In vitro* system to evaluate oral absorption of poorly water-soluble drugs: simultaneous analysis on dissolution and permeation of drugs [J]. *Pharm Res*, 2003, 20(10): 1674-1680.
- [17] 刘晓红. 氧化苦参碱生物药剂学与药物动力学基础研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [18] 赵秀丽. 布洛芬丁香酚酯前体药物的合成及其微乳给药系统的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005.
- [19] Augustijns R, Mols R. HPLC with programmed wavelength fluorescence detection for the simultaneous determination of marker compounds of integrity and P-gp functionality in the Caco-2 intestinal absorption model [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 34(5): 971-978.
- [20] Markowska M, Oberlea R, Juzwin S, et al. Optimizing Caco-2 cell monolayers to increase throughput in drug intestinal absorption analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2001, 46(1): 51-55.
- [21] Haslama I S, O'Reilly D A, Sherlock D J, et al. Pancreatoduodenectomy as a source of human small intestine for using chamber investigations and comparative studies with rat tissue [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2011, 32(4): 210-221.
- [22] Cattoor K, Bracke M, Deforce D, et al. Transport of hop bitter acids across intestinal Caco-2 cell monolayers [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(7): 4132-4140.
- [23] 吴安国, 曾宝, 王春玲, 等. HPLC考察小檗碱和黄连提取物中小檗碱在Caco-2细胞模型的转运 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(7): 1007-1011.
- [24] Artursson P, Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in human and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 175(3): 880-885.