

杠柳毒苷、杠柳次苷及杠柳苷元生物药剂学分类研究

邢雪¹, 郭晓¹, 任晓亮², 周立伟³, 王泰一¹, 刘虹¹, 王萌^{1,4*}

1. 天津中医药大学中医药研究院, 天津 300193

2. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617

3. 天津大学微电子学院, 天津 300072

4. 教育部方剂学重点实验室, 天津 300193

摘要:目的 采用生物药剂学分类系统(Biopharmaceuticals Classification System, BCS)对杠柳毒苷、杠柳次苷及杠柳苷元进行生物药剂学分类研究。方法 采用实验和计算机预测软件 Pipeline Pilot 8.5、ChemDraw 研究杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元的溶解性和渗透性, 根据实验值和预测值利用 BCS 分类方法对 3 者进行分类。结果 根据实验结果杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元均为 BCS III 类药物, 与不同软件预测的分类结果存在差异。基于 $ClgP$ 的渗透性结果与实验结果一致; 基于 lgC_s 的溶解性及基于 $AlgP$ 、 lgD 的渗透性预测结果与实验结果相反。结论 杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元均为 BCS III 类药物, 3 者溶解性依次降低, 但仍都属于高溶解性成分。3 者的渗透性是影响其吸收的关键因素。基于化学结构对甲型强心苷类药物活性成分进行的生物药剂学属性预测值与实验结果存在较大差异, 对含此类成分的中药制剂的口服吸收进行 BCS 研究及体内相关性评价时建议采用多种方法对数据进行校正, 增加结果的可靠性。

关键词: 生物药剂学分类系统; 杠柳毒苷; 杠柳次苷; 杠柳苷元; 溶解性; 渗透性

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)05-1082-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.05.009

Biopharmaceuticals classification system (BCS) of periplocin, periplocymarin and periplogenin

XING Xue¹, GUO Xiao¹, REN Xiao-liang², ZHOU Li-wei³, WANG Tai-yi¹, LIU Hong¹, WANG Meng^{1,4}

1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

3. School of Microelectronics, Tianjin University, Tianjin 300072, China

4. Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine Formulae, Ministry of Education, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To investigate the biopharmaceutical classification of periplocin, periplocymarin and periplogenin by biopharmaceuticals classification system (BCS). **Methods** The solubility and permeability of periplocin, periplocymarin and periplogenin were studied by using experimental and computer prediction software Pipeline Pilot 8.5 and ChemDraw. These three substances were sorted based on experimental and predicted values by BCS classification method. **Results** According to the test results, periplocin, periplocymarin and periplogenin were classified as BCS III, which are different from the classification results predicted by different software. The permeability results based on $ClgP$ was consistent with the experimental results; The solubility based on lgC_s and the permeability based on $AlgP$ and lgD were opposite to the experimental results. **Conclusion** The periplocin, periplocymarin and periplogenin are BCS III drugs, the solubility is decreased in turn, but they are still highly soluble components. The permeability is the key factor affecting its absorption. The predicted value of biopharmaceutical properties of active ingredients of A-type cardiac glycosides based on the chemical structure are significant different with the test results, for the BCS study and the *in vitro* and *in vivo* correlation evaluation of oral absorption of traditional Chinese medicine preparations containing such ingredients, it is recommended to use a variety of methods to correct the data and increase the reliability of the results.

Key words: biopharmaceuticals classification system; periplocin; periplocymarin; periplogenin; solubility; permeability

收稿日期: 2018-11-26

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81873191)

作者简介: 邢雪, 女, 在读硕士, 研究方向为药剂学。Tel: 14730325856 E-mail: xingxuezy@163.com

*通信作者 王萌, 女, 博士, 副研究员, 研究方向为中药生物药剂学研究。E-mail: wangmeng@tjucm.edu.cn

香加皮 *Periplocae Cortex* 为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium* Bge. 的干燥根皮, 具有利尿消肿、祛风湿、强筋骨的功能。临床多用于治疗下肢浮肿、心悸气短、风寒湿痹、腰膝酸软等症状^[1]。其中, 杠柳毒苷是存在于香加皮中的一类甲型强心苷类成分^[2], 具有强心利尿、抗肿瘤、抗炎、免疫调节等药理作用^[3-10]。杠柳毒苷、杠柳次苷及杠柳苷元与其他甲型强心苷类成分一样可以选择性作用于心脏^[11], 有加强正性肌力的作用, 可以增加心肌收缩力, 减慢心率, 是香加皮的主要药效成分。并且相比于洋地黄毒苷和地高辛等强心苷类成分, 其治疗窗较宽, 但过量使用仍然会导致临床用药危险, 例如产生房室传导阻滞、早搏、心动过速、心房颤动等心脏毒性。

生物药剂学分类系统 (Biopharmaceuticals Classification System, BCS) 是由美国密歇根大学 Amidon 等^[12]在 1995 年首次提出的根据药物的水溶解性和肠道渗透性进行分类的一种科学框架。该分类系统自提出后受到越来越多的关注, 并逐渐取得了美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA)、欧洲药品管理局 (European Medicines Agency, EMA) 和世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 的认可而将其运用到相关指导原则中。FDA 在 2000 年提出《根据 BCS 豁免速释固体口服制剂体内生物利用度和生物等效性研究的指导原则》, 并将其不断修正, 符合条件的相关药物可申请生物等效性豁免, 提示其具有体内外相关性。基于 BCS 的生物等效豁免在保证药品质量的同时极大简化了大量仿制药物研发的时间和经济成本。目前对于中药 BCS 分类研究多为单一成分生物药剂学属性评价。

溶解性和渗透性是 BCS 分类系统的 2 个核心要素, 是影响药物体内吸收程度和速度的基本参数。目前对于溶解性和渗透性的测定方法有多种, 本实验采用 FDA 推荐的平衡溶解度法和动物离体实验研究杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元的溶解性和渗透性; 同时采用 2 种化合物参数预测软件 Pipeline Pilot 8.5 和 ChemDraw 预测 3 者的溶解性参数 $\lg C_s$ 、透过性参数 Algp 、pH 依赖性分配系数 $\lg D$ 以及 Clgp 值。根据经典 BCS 分类方法对 3 者进行生物药剂学分类系统研究, 并对实验值和预测值的差异原因进行了探讨, 为植物药新药的研发提供参考思路和技术支持, 减少新药研发的费用和时间, 加快

天然药物新药的研发进程。

1 仪器与材料

H class 超高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; CH-4213 溶出仪, 瑞士 sotax 公司; TK-20B 型透皮扩散仪, 中国锴凯科技贸易有限公司; H1650-W 离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; Milli-Q 超纯水仪, 美国 Millipore 公司; 甲酸, 天津市大茂化学试剂厂; 氯化钠、氯化钾、氯化钙、硫酸镁、磷酸二氢钠、碳酸氢钠、葡萄糖、乙腈、甲醇均购自美国 Sigma 公司。对照品杠柳毒苷 (批号 W06-4-8)、杠柳次苷 (批号 W17-9-1) 和杠柳苷元 (批号 W17-9-2) 均购自天津中新药业股份有限公司, 质量分数均 $\geq 98.0\%$ 。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters BEH RP C_{18} 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm), 杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元所用流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 体积流量 0.20 mL/min, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 5 μL , 检测波长为 220、260 nm。

2.2 杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元溶解性评价

2.2.1 实验测定溶解度 精密称取杠柳毒苷 5.31 mg、杠柳次苷 2.92 mg、杠柳苷元 1.03 mg, 于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容得到对照品储备液。取过量杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元于 250 mL 超纯水 (pH 6.8) 中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴、60 r/min 磁力搅拌下平衡 24 h, 取 500 μL 饱和溶液于 12 000 r/min 离心 5 min, 经超纯水适当稀释后, 进行 UPLC 测定, 计算各成分在纯水中的溶解度。

2.2.2 软件预测溶解度 采用 Pipeline Pilot 8.5 软件预测杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元在 25 $^{\circ}\text{C}$ 水中溶解性, 基于电性拓扑状态指数表征 3 种成分的分子结构, 应用多元线性回归方法得到 3 种成分的分子溶解度 (C_s)。

2.2.3 药物剂量数 (D_0) 的计算 《中国药典》2015 年版中规定香加皮的每日最大用量为 6 g。本研究以干质量香加皮药材中杠柳毒苷最高质量分数 1.215% 来计^[13]。杠柳毒苷单次最大口服剂量为 72.90 mg, 杠柳次苷和杠柳苷元单次最大口服剂量分别为 55.94、40.85 mg。

D_0 是反映药物溶解性与口服吸收之间关系的参数, 是药物溶解性能的函数, 计算公式为 $D_0 = D/V_0S$, 其中, D 为药物单次最大口服剂量, S 为药物的溶解度, V_0 为溶解药物所需液体体积 (250

mL), 是生物等效性实验方案中规定给予空腹志愿者 1 杯水的体积。根据实验及预测的溶解度由上式得到 3 种成分的 D_0 。具体结果见表 1。

表 1 3 种成分在纯水中的溶解度及剂量数

Table 1 Solubility and dose of three components in water

成分	$S/$ (mg·mL ⁻¹)	D_0 实 验值	$\lg C_s$	$C_s/$ (mg·mL ⁻¹)	D_0 预 测值
杠柳毒苷	4.26	0.07	-4.49	0.02	12.68
杠柳次苷	0.72	0.31	-4.89	0.01	30.60
杠柳苷元	0.31	0.52	-3.93	0.05	3.55

2.3 杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元渗透性评价

2.3.1 大鼠外翻肠囊法测定药物的渗透性 精密称取杠柳毒苷 5.34 mg、杠柳次苷 5.27 mg、杠柳苷元 5.19 mg 于 100 mL 量瓶中, 用 Krebs-Ringer's 肠营养液定容。大鼠取十二指肠、空肠、回肠置于 37 °C 恒温并盛有药液的离心管中, 分别于 15、30、60、90、120 min 吸取肠囊中药液 0.20 mL, 在 12 000 r/min 条件下离心 5 min, 取上清液作为样品溶液, UPLC 测定杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元的含量, 计算 3 种成分取样终点的累积吸收量 (Q_n)、表观渗透系数 (P_{app}) 和吸收率 (P), 考察各成分在小肠的透过吸收, 计算公式如下。

$$Q_n = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} V_i C_i) / A$$

$$P_{app} = Q_n / (t \times C)$$

C_i 为各取样点质量浓度, V 为肠段体积, V_i 为取样体积, A 为离体肠囊面积, t 为取样终点时间, C 为样品初始质量浓度

不同时间点对不同肠段的单位肠管累积吸收曲线见图 1, 取样终点时 3 种成分的 Q_n 、 P_{app} 和 P 见表 2。结果表明 3 种成分中杠柳次苷在小肠内没有吸收。杠柳毒苷在十二指肠的透过最好, 在空肠的透过稍差于十二指肠, 而在回肠的透过量明显低于十二指肠, 并且随时间延长, 杠柳毒苷在回肠和十二指肠的 Q_n 差别逐渐增大, 十二指肠的透过稍高于空肠和回肠。杠柳苷元在空肠和回肠的 Q_n 基本一致, 其在十二指肠中吸收最高。

杠柳毒苷经水解脱糖依次得到杠柳次苷和杠柳苷元^[14-15]。3 者在体内的吸收、分布、代谢、排泄的方式及特点有所不同。相关报道表明 P-糖蛋白 (P-gp) 的参与影响了杠柳毒苷在体内的吸收^[16], 但杠柳次苷在体内的吸收却不受 P-gp 的影响^[17]。在分布上, 3 者口服一定时间后杠柳毒苷的分布为肝>

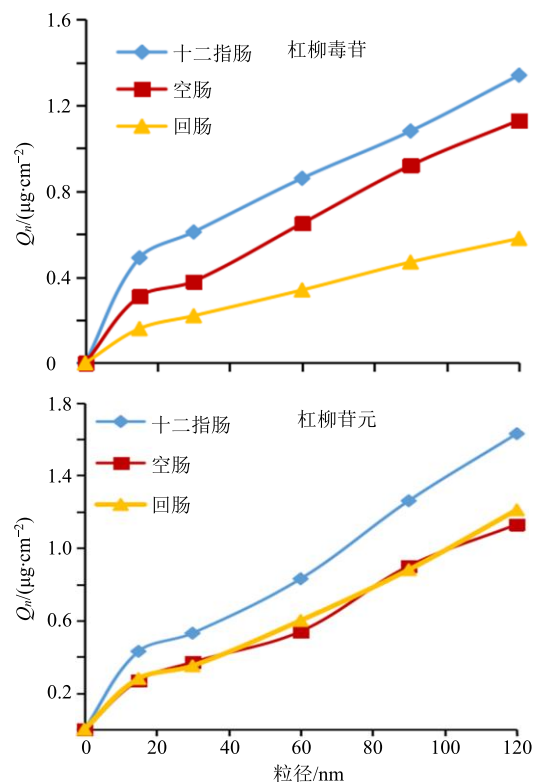


图 1 杠柳毒苷、杠柳苷元对不同肠段的累积吸收曲线
Fig. 1 Cumulative absorption curves of periplocin and periplogenin on different intestinal segments

表 2 取样终点时 3 种成分的 Q_n 、 P_{app} 和 P ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 2 Q_n , P_{app} , and P of three components at end of sampling ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

成分	$Q_n/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	$P_{app}/(\times 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1})$	$P/\%$
杠柳毒苷	1.34 ± 0.45	3.54 ± 1.12	2.55 ± 0.81
杠柳次苷	—	—	—
杠柳苷元	1.63 ± 0.19	4.37 ± 0.50	3.15 ± 0.36

脾>肺>心>肾>脑, 杠柳次苷的分布为肝>肾>肺>心>脾>脑, 杠柳苷元为肝>肺>肾>心>脾>脑; 在代谢上 3 者多以经肝随胆汁排泄^[18]。3 者在药动学上的差别可能为本实验中杠柳次苷在小肠内无吸收的原因作出解释。杠柳毒苷经大鼠 ig 给药后粪便中主要以杠柳次苷的形式存在^[19]。

2.3.2 软件预测渗透性 药物在体内的吸收程度与药物的脂溶性有关, 油水分配系数 ($\lg P$) 值是指物质在正辛醇和水中的分配系数, 可以反映药物的亲脂性和生物膜的透过性, 因此本实验采用计算机软件预测药物的 $\lg P$ 值来表征药物的渗透性。使用 Pipeline Pilot 8.5 模拟软件对杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元的 AlgP 和 $\lg D$ 值进行预测, 使用 ChemDraw 模拟软件预测 3 种成分的 ClgP 值, 其预

测原理参考 Ghose 等^[20]研究中的原子与基团贡献法。其中 $AlgP$ 是通过加和原子的疏水常数得到的分子 lgP 值, $ClgP$ 是通过加和基团的疏水常数得到的分子 lgP 值, lgD 是化合物在所有解离和非解离形式下, 在不同 pH 值的正辛醇和水中总浓度的比值, 由 $ClgP$ 和电离常数 pK_a 计算得到。可见, 相关数据是由软件根据化合物结构计算而得, 因此杠柳次苷有相应渗透性预算值。预测结果见表 3。

2.4 杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元的 BCS 分类研究

FDA 在速释固体口服制剂的生物等效性豁免指导原则^[21]中规定: 在 37 °C, pH 值为 1~7.5 时, $D_0 \leq 1$, 药物为高溶解性, 反之为低溶解性。药物渗透性实验中以 $P_{app} \geq 8.4 \times 10^{-5}$ 为高渗透性药物, 反之则为低渗透性。参照此项规定对杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元进行 BCS 分类, 分类标准见表 4。

表 3 3 种成分渗透性预测值结果

成分	lgD	$AlgP$	$ClgP$
杠柳毒苷	0.74	0.74	0.47
杠柳次苷	2.49	2.49	1.57
杠柳苷元	2.17	2.17	1.05

3 种成分分类结果见表 5 和图 2。

从实验所得数据看, 杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元均为 BCS III 类药物, 即溶解性高、渗透性低。从预测值看, 不同预测软件 BCS 分类结果不同。基于 $ClgP$ 的渗透性预测结果与实测结果基本一致; 基于 $AlgP$ 的预测值认为杠柳毒苷为低渗透性物质与实测结果一致; 基于 lgD 的渗透性预测结果和基

表 4 BCS 分类标准值

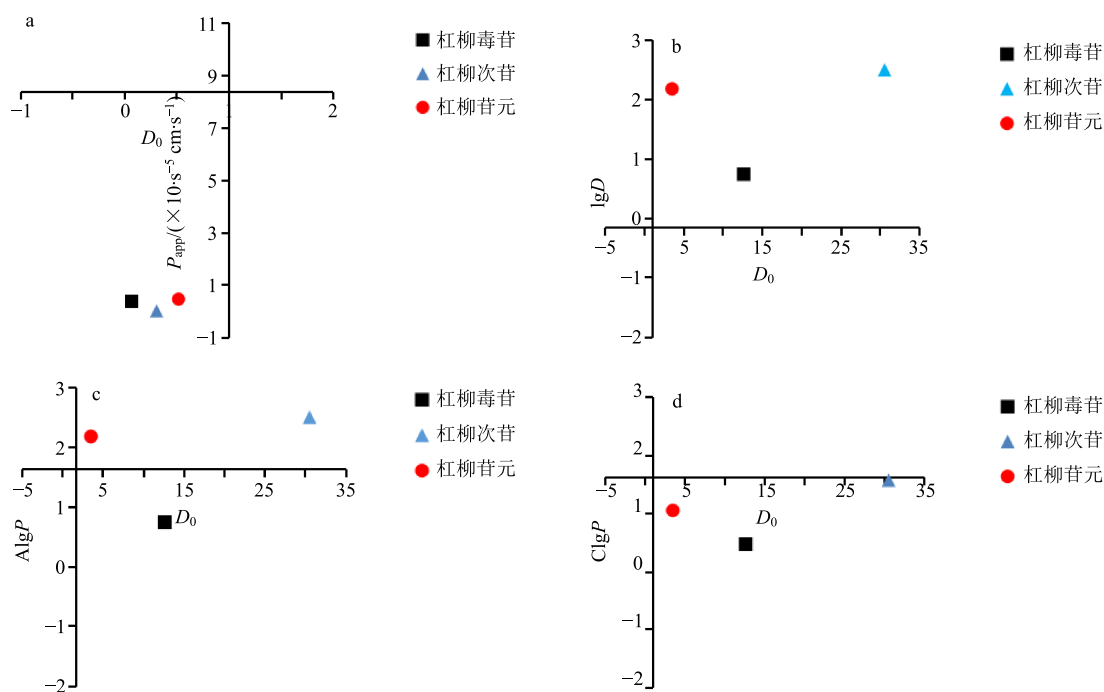
Table 4 BCS classification standard

分类	D_0	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	lgD	lgP
I	≤ 1	≥ 8.4	≥ -0.15	≥ 1.63
II	> 1	≥ 8.4	≥ -0.15	≥ 1.63
III	≤ 1	< 8.4	< -0.15	< 1.63
IV	> 1	< 8.4	< -0.15	< 1.63

表 5 实验 BCS 分类结果和软件预测 BCS 分类结果

Table 5 Experimental and predicted BCS classification results

成分	BCS (D_0/P_{app})	BCS (D_0/lgD)	BCS ($D_0/AlgP$)	BCS ($D_0/ClgP$)
杠柳毒苷	III	II	IV	IV
杠柳次苷	III	II	II	IV
杠柳苷元	III	II	II	IV



a 为实验分类结果, b~d 为软件预测结果

a shows experimental results, b~d shows predict results

图 2 实验 BCS 分类结果和预测 BCS 分类结果

Fig. 2 Experimental and predicted BCS classification results

于 $\lg C_s$ 的溶解性预测结果与实测结果相反; 基于 AlgP 的预测值认为杠柳次苷和杠柳苷元为高渗透性与实测结果相反。

根据实验结果, 杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元均为 BCS III 类药物, 并且作为强心苷其治疗窗比地高辛宽, 具有吸收速度快、半衰期短、无蓄积作用等特点^[22], 具有很大的开发潜力。当 BCS III 类药物符合在 500 mL 3 种不同释放介质 (0.1 mol/L HCl 或不含酶的模拟胃液、pH 4.5 缓冲介质、pH 6.8 缓冲介质或不含酶的模拟肠液) 中 15 min 内活性成分的溶出 $\geq 85\%$ 时具有生物豁免的可能。提示以此类成分作为指标的口服中药制剂可能满足生物豁免的要求, 因此可采用体外评价方法对其口服吸收进行评估。基于化学结构对甲型强心苷类药物活性成分进行的生物药剂学属性预测值与实验结果数据存在较大差异, 对含此类成分的中药制剂的口服吸收进行 BCS 研究及体内外相关性评价时建议采用多种方法对数据进行校正, 增加结果的可靠性。本实验为天然产物新药的研发提供技术支持, 节省研发的时间与成本。

3 讨论

3.1 实验值与预测值差异原因

本实验采用摇瓶法-UPLC 法测定药物的平衡溶解度。摇瓶法是经典的平衡溶解度测定方法, 在药物研究领域应用广泛, 常常被用来作为标定新的溶解度测定方法的标准^[23]。可见该检测方法准确可靠, 干扰因素小, 结果稳定。Pipeline Pilot 8.5 模拟软件预测化合物溶解度是基于电性拓扑状态指数计算得到, 由原子电子特性和分子中每个骨架原子的拓扑环境所决定, 相比于实验而言具有一定误差, 所以杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元的溶解度以实验结果为准。Pipeline Pilot 8.5 模拟软件预测化合物 AlgP 、 $\lg D$ 是基于原子与基团贡献法, 预测值由加和原子与基团疏水常数得到, 由化合物结构所决定。实验测定渗透性采用大鼠外翻肠囊法, 模拟药物经肠道吸收的真实环境, 肠液成分复杂, 影响因素较多, 故实验值与预测值有所偏差。

对杠柳毒苷、杠柳次苷和杠柳苷元溶解度的实测值与预测值的差别可能与预测软件对甾体母核结构的认知有关。甾体母核是一类具有环戊烷骈多氢菲结构的母核, 其基本骨架为碳架, 极性较小, 溶解度较差, 这可能是软件预测 3 种成分溶解性低的原因。杠柳毒苷在人克隆结肠腺癌 Caco-2 细胞和在

体肠灌流模型中为高渗透性。另有文献表明, 杠柳次苷的吸收过程无 P-gp 和 P450 酶的参与^[17], 但目前未见其转运方式和机制的确切研究。现有计算方法对可电离的离子型成分计算差异较大, 不同的吸收实验方法所得结果不同。还进一步说明其吸收机制必然存在多种不同途径, 若想对其进行准确分类, 多实验方法和多预测方法互相校正仍然是必须的。

3.2 杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元 3 者溶解度、渗透性、毒性比较

强心苷的溶解性与分子所含糖的数目、种类, 苷元所含的羟基数及位置有关^[24]。根据本实验 3 者的溶解度大小依次为杠柳毒苷 > 杠柳次苷 > 杠柳苷元, 推测是其结构原因。杠柳毒苷含有 2 个糖基, 极性最大, 溶解度最好。杠柳次苷较杠柳苷元多一加拿大麻糖, 故杠柳次苷溶解度高于杠柳苷元。

根据本实验杠柳苷元的渗透性高于杠柳毒苷, 杠柳次苷在小肠内没有透过, 其可能原因为 Krebs-Ringer's 肠营养液成分复杂, 杠柳次苷在此环境下不稳定从而结构发生改变。有报道表明杠柳毒苷去糖基化后转变为杠柳次苷, 后者脂溶性增加, 其渗透性增高^[25]。

杠柳毒苷是香加皮的毒性成分和有效成分。Bloise 等^[26]将 3 者作用于人髓系白血病 U937 细胞和雄激素非依赖性前列腺癌 PC3 细胞上发现杠柳次苷的抑制率最高其次为杠柳毒苷和杠柳苷元, 提示其毒性大小可能为杠柳次苷 > 杠柳毒苷 > 杠柳苷元。

3.3 杠柳毒苷与地高辛

与杠柳毒苷同属于强心苷类, 化学结构相似的地高辛和洋地黄毒苷也有相同的水解过程。地高辛经水解脱糖可依次生成地高辛苷元双洋地黄毒糖苷、地高辛苷元单洋地黄毒糖苷、地高辛苷元。洋地黄毒苷经水解脱糖可依次生成洋地黄毒苷元双洋地黄毒糖苷、洋地黄毒苷元单洋地黄毒糖苷和洋地黄毒苷元^[27]。药物的化学结构决定了它的理化性质进而直接影响药物分子在体内的代谢过程。地高辛与洋地黄毒苷化学结构非常相似, 地高辛仅比洋地黄毒苷在甾核的 C-12 位碳原子上多 1 个羟基, 由此 2 者在人体内吸收、分布、代谢、排泄方面虽有不同但仍有很多相似之处。例如, 2 者均为 P-gp 底物^[28-30], 主要分布于心、肝、脾、骨骼肌等^[31], 代谢方式有脱糖、内酯环氢化^[31-32]。因此地高辛的代谢方式可为杠柳毒苷、杠柳次苷及杠柳苷元在体内的代谢过程提供参考。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 陈浩浩, 王晓明, 潘桂湘, 等. 杠柳毒苷、杠柳次苷、杠柳苷元与人血浆蛋白结合率测定 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(7): 32-35.
- [3] 孙 达, 张 静, 陈金堂, 等. 香加皮中强心苷类对大鼠离体心脏的强心作用比较 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(12): 2633-2635.
- [4] Zhang W J, Song Z B, Bao Y L, *et al.* Periplogenin induces necroptotic cell death through oxidative stress in HaCaT cells and ameliorates skin lesions in the TPA-and IMQ-induced psoriasis-like mouse models [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 105: 66-79.
- [5] 王利萍, 刘建利. 香加皮的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 493-496.
- [6] 阎雪梅. 香加皮的化学成分药理作用及临床应用研究进展 [J]. 天津药学, 2011, 23(5): 48-52.
- [7] Li L, Zhao L M, Dai S L, *et al.* Periplocin extracted from *Cortex Periplocae* induced apoptosis of gastric cancer cells via the ERK1/2-EGFR pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(5): 1939-1951.
- [8] 丁菲菲, 张晓静, 邓雁如. 杠柳毒苷体外抑制肝癌细胞和乳腺癌细胞增殖的实验研究 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(1): 30-33.
- [9] 卫银盘, 赵迎迎, 邓雁如. 杠柳的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2009, 28(3): 165-166.
- [10] 张辉云, 贺清华, 童珊珊, 等. 香加皮活性成分及其药理作用研究进展 [J]. 药学进展, 2013, 37(9): 449-453.
- [11] 高淑红, 谢跃生, 肖学凤, 等. 杠柳毒苷在大鼠体内的组织分布 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 116-118.
- [12] Amidon G L, Lennernäs H, Shah V P, *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability [J]. *Pharm Res*, 1995, 12(3): 413-420.
- [13] 田俊生, 李天祥, 刘 虹, 等. HPLC 法测定不同产地香加皮中杠柳毒苷的含量 [J]. 中药材, 2006, 29(8): 799-800.
- [14] 任晓亮, 谢跃生, 潘桂湘, 等. 香加皮强心成分杠柳毒苷肠菌代谢研究 [J]. 天津中医药, 2007, 24(6): 515-518.
- [15] 冯 红, 李 倩, 潘桂湘. 香加皮提取物杠柳毒苷水解脱动力学研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(9): 41-44.
- [16] Liang S, Deng F, Xing H, *et al.* P-glycoprotein-and organic anion-transporting polypeptide-mediated transport of periplocin may lead to drug-herb/drug-drug interactions [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8: 475-483.
- [17] Martey O N, He X, Xing H, *et al.* Periplocymarin is a potential natural compound for drug development: Highly permeable with absence of P-glycoprotein efflux and cytochrome P450 inhibitions [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2014, 35(4): 195-206.
- [18] Liu H, Zhang D, Tang Z, *et al.* Tissue distribution study of periplocin and its two metabolites in rats by a validated LC-MS/MS method [J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(10): e4302.
- [19] 王 强, 任晓亮, 王 焱, 等. 杠柳毒苷在大鼠体内排泄的初步研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2008, 27(1): 29-32.
- [20] Ghose A K, Viswanadhan V N, Wendoloski J J. Prediction of hydrophobic (lipophilic) properties of small organic molecules using fragmental methods: An analysis of ALOGP and CLOGP methods [J]. *Phys Chem A*, 1998, 102(21): 3762-3772.
- [21] Guidance for industry: Waiver of *in vivo* bio-equivalence studies for immediate release solid oral dosage forms containing certain active moieties/active ingredients based on Biopharmaceutics Classification System [S]. 2000.
- [22] 王 焱, 任晓亮, 潘桂湘, 等. 杠柳毒苷在模拟消化液中的稳定性研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2007, 26(2): 74-76.
- [23] 胡程耀, 黄 培. 固体溶解度测定方法的近期研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(4): 761-766.
- [24] 匡海学. 中药化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2014.
- [25] 邓逢春, 李 超, 何 新. 杠柳毒苷及其降解产物杠柳次苷在 MDCK 细胞的跨膜透过特性研究 [EB/OL]. 北京: 中国科技论文在线, 2012-01-10. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201201-312>.
- [26] Bloise E, Braca A, De Tommasi N, *et al.* Pro-apoptotic and cytostatic activity of naturally occurring cardenolides [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64(4): 793-802.
- [27] 贾雨萌, 王相阳, 褚 扬, 等. 强心苷类药物药动学研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3472-3477.
- [28] 于慧斌, 孙成春. 阿奇霉素对地高辛小肠吸收及其 P-糖蛋白表达的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(9): 758-760.
- [29] Hughes J, Crowe A. Inhibition of P-glycoprotein-mediated efflux of digoxin and its metabolites by macrolide antibiotics [J]. *J Pharmacol Sci*, 2010, 113(4): 315-324.
- [30] Pauli-Magnus C, Mürdter T, Godel A, *et al.* P-glycoprotein-mediated transport of digitoxin, alpha-methyl digoxin and beta-acetyldigoxin [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2001, 363(3): 337-343.
- [31] Nokhodian A, Santos S R, Kirch W. Digitoxin and its metabolites in patients with liver cirrhosis [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 1993, 18(2): 207-213.
- [32] Lindenbaum J, Tse-Eng D, Butler V P, *et al.* Urinary excretion of reduced metabolites of digoxin [J]. *Am J Med*, 1981, 1(1): 67-74.