

· 药理 ·

基于 Caco-2 细胞模型研究蝙蝠葛碱的跨膜吸收机制

高秀蓉^{1*}, 蒋学华², 杜青青²

(1. 成都医学院药学院药剂教研室, 成都 610083;

2. 四川大学华西药学院临床药学与药事管理学系, 成都 610041)

[摘要] **目的:**研究蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞模型中的跨膜转运机制。**方法:**采用 Caco-2 细胞模型,进行 A-B 和 B-A 双向转运实验,计算表观渗透系数(P_{app})、外排比率(ER)和累积转运量,考察蝙蝠葛碱不同质量浓度、细胞两侧 pH 梯度和螯合剂 EGTA 对蝙蝠葛碱转运的影响。**结果:**高、中、低浓度下的 ER 分别为 1.11, 4.49 和 7.24,即中、低浓度下转运有明显极化现象;顶侧 pH 7.4 和 6.5 时,ER 值分别为 3.95 和 9.38,即 pH 梯度存在时,蝙蝠葛碱吸收减少,外排增加;加入螯合剂 EGTA 后, P_{app} , ER 和累积转运量均无显著改变。**结论:**蝙蝠葛碱的吸收有主动转运机制存在;pH 梯度能驱动了蝙蝠葛碱的外排转运,偏碱性环境较酸性环境易于吸收;其吸收途径主要为跨细胞通道转运。

[关键词] 蝙蝠葛碱;Caco-2 细胞模型;吸收机制;吸收途径

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)15-0139-05

Absorption Mechanism of Dauricine based on Caco-2 Cell Line

GAO Xiu-rong^{1*}, JIANG Xue-hua², DU Qing-qing²

(1. The Department of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China;

2. The Department of Clinical Pharmacy and Pharmacy Administration, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the absorption mechanism of dauricine based on Caco-2 cell line. **Method:** Bidirectional transport of dauricine in Caco-2 cell model was used; apparent permeability coefficients (P_{app}), efflux ratio (ER) and accumulation transport amount were calculated; the effect of drug concentration, pH gradient and EGTA on the bidirectional transport of dauricine were studied. **Result:** At high, middle and low concentrations the efflux ratio (ER) was 1.11, 4.49, 7.24 respectively, so there was significant polar phenomenon for transport of dauricine; at apical lateral when pH was 7.4 and 6.5, ER were 3.95 and 9.38 respectively, so pH gradient could reduce the absorption of dauricine; chelator EGTA couldn't affect the P_{app} , ER and accumulation transport amount of dauricine. **Conclusion:** The active transport was included in the absorption mechanism of dauricine, pH gradient could increase the polar phenomenon, transmembrane pathway is the main absorption route for dauricine.

[Key words] dauricine; Caco-2 model; absorption mechanism; absorption pathway

蝙蝠葛碱(dauricine, Dau)是北豆根最主要有效成分之一,属于双苄基异喹啉类生物碱,具有心血管系统、抗菌和抗癌等广泛药理作用,是具有良好应

用前景的抗心律失常药^[1]。但蝙蝠葛碱口服生物利用度低于 20%^[2],严重限制了其口服制剂的开发和临床应用。因此迫切需对其口服吸收机制进行深入研究,以揭示影响蝙蝠葛碱口服生物利用度的因素。

Caco-2(human colon carcinoma cell lines)细胞模型是目前最为成熟和应用最多的体外吸收模型,可用于快速评估新药的细胞渗透性、阐明药物转运

[收稿日期] 20120418(008)

[基金项目] 成都医学院院级科研课题(CYZ09-008)

[通讯作者] *高秀蓉,讲师,博士,从事药物新剂型设计及药物药动学研究, Tel: 13678011025, E-mail: gaomuxouzi@126.com

的途径、评价提高膜通透性的方法等,成为药物吸收研究的有力工具^[3]。本论文采用 Caco-2 细胞模型研究蝙蝠葛碱跨膜转运特性,从细胞水平考察蝙蝠葛碱吸收机制,为深入研究蝙蝠葛碱的口服吸收和制剂设计开发提供生物药剂学依据。

1 材料

1.1 细胞 Caco-2 细胞株(美国 ATCC, American Type Culture Collection 公司)。

1.2 试药 蝙蝠葛碱原料药(深圳市维琪生物科技有限公司,批号 090306, HPLC 级纯度 98.0% 以上);蝙蝠葛碱对照品(深圳市维琪生物科技有限公司,批号 090315, HPLC 级纯度 99.0% 以上);甘露醇(分析纯,成都科龙化学试剂厂);达尔伯克改良伊格乐培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM, 美国 Gibco-BRL 公司);EGTA(分析纯,成都科龙化学试剂厂);HBSS 缓冲液(美国 Gibco-BRL 公司);胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS, 美国 Gibco-BRL 公司);空白培养液(含有 10% FBS 的 DMEM 培养液);HPLC 所用有机溶剂均为色谱纯, HPLC 所用水为二次重蒸水,其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器 LC-2010C HT 高效液相色谱仪(包括 LC-10AT 泵、SPD-10A 紫外检测器和 LC solution 色谱工作站,日本 Shimadzu);二氧化碳孵箱(德国贺利氏公司);倒置相差显微镜(日本奥林巴斯公司);Millicell-ERS 电位仪(美国密理博公司);Transwell® 6 孔板系统(膜孔径 0.14 μm, 生长面积 4.71 cm², 美国科斯塔公司);超净工作台(苏州净化设备总厂);THZ-100 型恒温摇床(上海一恒科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 Caco-2 细胞模型培养^[3-4] 用于吸收研究的 Caco-2 细胞的传代数为 25~35,使用空白培养液将其制成细胞密度约 2 × 10⁵/mL 的混悬液,接种在 Transwell 6 孔板上(每个孔由聚碳酸酯膜分隔成为上下两个室,上侧室为肠腔侧(apical lateral, AP),记为 A 侧,下侧室为基底侧(basal lateral, BL),记为 B 侧)。接种好的 Transwell 6 孔板置 37 °C 5% CO₂ 孵箱静置培养,每天更换 1 次培养液,直至形成完全致密的单层细胞膜(21 d 左右)。

2.2 Caco-2 细胞模型的评价

2.2.1 细胞跨膜电阻 可通过测量单细胞层的跨膜电阻来评价 Caco-2 细胞是否分化成完整的单层膜,一般而言 TEER 值大于 400 Ω·cm² 时即表明 Caco-2 细胞完全分化。本试验中采用电位仪监测

Caco-2 细胞在聚碳酸酯膜上生长 21 d 时 TEER,其 TEER 大于 400 Ω·cm² 并趋于恒定时,表明此时细胞已具有足够的紧密连接和完整性,可用于转运试验研究。

2.2.2 细胞形态学 Caco-2 细胞完全分化成型后,在透射电镜照片上可清晰地观察到整齐的刷状缘微绒毛与上皮细胞的特征结构。微绒毛的构成类似于小肠上皮细胞的肠腔侧(即 apical lateral, A 侧),另一端分化后类似小肠上皮面向肠壁的基底膜侧(即 basal lateral, B 侧),这些现象均可证明细胞已分化成熟。Caco-2 细胞培养 19 d 后,细胞分化与极化基本完成,可用于转运试验。

2.2.3 标志物被动扩散的跨膜通量 通常采用甘露醇、菊粉、PEG-4000 和荧光素钠等放射性标记物或荧光物质测量细胞单层的通透量。由于这些物质均为水溶性,难以跨细胞通道转运,相对分子质量较大,也难以通过细胞间通道,当 Caco-2 细胞融合形成完整单层后,此类物质均不易透过,故可作为检测细胞单层完整性的标志物。采用甘露醇作为标志物检测所培养细胞的完整性,细胞符合要求后即用于实验。

2.3 HPLC 测定样品的色谱条件 Sepax C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相甲醇-水(76:24, 含 1% 三乙胺和 0.21% 磷酸);流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 284 nm;柱温 30 °C;进样体积 20 μL。

2.4 样品处理方法 转运样品经 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后,取上清液 20 μL 进样,在 2.3 项下色谱条件下进行测定,记录蝙蝠葛碱峰面积,代入标准曲线计算蝙蝠葛碱的浓度。

2.5 蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞模型中双向转运实验^[5] 所有的转运分为 AP-BL 侧(A-B, 吸收转运)和 BL-AP 侧(B-A, 分泌转运)的双向转运。

2.5.1 A-B 转运 吸去培养 21 d 左右、符合转运条件的 Transwell® 膜上的培养基,用 37 °C 的 HBSS 缓冲液轻柔地清洗细胞单层 3 次,以洗净细胞单分子层表面的培养基等杂质,最后一次加入 HBSS 缓冲液后置于 37 °C 培养箱中温孵培养 30 min 以保证细胞适应转运环境。吸去缓冲溶液,在 BL 侧(接受侧)加入 2.5 mL 空白 HBSS 缓冲液作为接收液,在 AP 侧(供给侧)加入含有受试药物的 HBSS 缓冲液 1.5 mL,作为供给液,加完后立即将 Transwell® 置于恒温摇床(37 °C, 40 r·min⁻¹)中温孵,并作为零时间开始计时,分别在 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120

min 从接受侧精确吸取 100 μL 溶液,同时补加 100 μL HBSS 缓冲液,吸取的样品以 HPLC 进行测定。

2.5.2 B-A 转运 方法与 A-B 转运类似,方法稍有不同。吸去培养 21 d 左右、符合转运条件的 Transwell® 膜上的培养基,用 37 $^{\circ}\text{C}$ 的 HBSS 轻柔地清洗细胞单层 3 次,洗去细胞单分子层表面的培养基等杂质,最后一次加入 HBSS 缓冲液后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中温孵培养 30 min。吸去缓冲溶液,在 AP 侧(接受侧)加入 1.5 mL 空白 HBSS 作为接收液,在 BL 侧(供给侧)加入含有受试药物的 HBSS 2.5 mL,作为供给液,加完后立即将 Transwell® 置于恒温摇床(37 $^{\circ}\text{C}$, 40 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)中温孵,并作为零时间开始计时,分别在 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 min 从接受侧精确吸取 100 μL 溶液,同时补加 100 μL HBSS 缓冲液,吸取的样品以 HPLC 进行测定。

2.6 不同浓度蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞中的双向转运

2.6.1 试液的配制 蝙蝠葛碱储备液的配制:精密称取蝙蝠葛碱对照品 4.93 mg,置 10 mL 棕色量瓶中,用适量 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 溶解,然后用 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 调节 pH 6~7,用 pH 7.4 HBSS 缓冲液定容至 10 mL,摇匀即得质量浓度为 493 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的蝙蝠葛碱对照品贮备液, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存。

2.6.2 转运液的配制 取蝙蝠葛碱贮备液(493 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 2.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 pH 7.4 HBSS 缓冲液定容至 10 mL,得 98.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 高浓度转运液;取储备液 1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 pH 7.4 HBSS 缓冲液定容至 10 mL,得 49.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 中浓度转运液;取储备液 0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 pH 7.4 HBSS 缓冲液定容至 10 mL,得 24.65 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 低浓度转运液。

考察上述高、中、低 3 个浓度转运液在 Caco-2 细胞中的双向转运,以考察不同浓度下蝙蝠葛碱的转运特点及转运机制,每个实验平行 3 次($n=3$)。

2.7 Caco-2 细胞两侧 pH 梯度对蝙蝠葛碱转运的影响 考察 Caco-2 细胞顶侧 pH(分别为 7.4 和 6.5)对蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞中转运的影响,双向转运具体操作按照 2.5 项下方法进行,每个实验平行 3 次($n=3$)。不同之处在于细胞顶侧用 pH 分别为 7.4 和 6.5 的 HBSS 替代空白 pH 7.4 HBSS,且在试验开始前用 pH 分别为 7.4 和 6.5 HBSS 预先孵化 Caco-2 细胞单层膜约 30 min,使细胞预先处于该 pH 环境中。

2.8 螯合剂 EGTA 对蝙蝠葛碱转运的影响

2.8.1 试液的配制 HBSS + EGTA:精密称取 EGTA 适量,用重蒸水溶解并定容,并用 HBSS 缓冲液稀释一定倍数,得含 25.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EGTA 的 HBSS 缓冲液。

HBSS + EGTA + Dau:取 25.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EGTA 储备液 10 μL 于 10 mL 量瓶中,加入 1 mL 浓度为 493 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Dau 对照品贮备液,用 HBSS 缓冲液定容,得含 25.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EGTA 和 49.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Dau 的 HBSS 缓冲液(转运液)。

2.8.2 实验方法 考察螯合剂 EGTA 对蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞中转运的影响,双向转运具体操作按 2.5 项下方法进行,每个实验平行 3 次($n=3$)。不同之处在于用含 EGTA 的 HBSS 替代空白 HBSS,且在试验开始前以含一定浓度 EGTA 的空白转运液预先孵化 Caco-2 细胞单层膜 30 min,以螯合钙离子。

2.9 参数的计算

2.9.1 药物累积转运量的计算 转运试验中加入空白转运液的一侧为接受室,接受室中的药量为吸收量(Q_r)。A-B 转运试验中 B 侧为接受室,不同时间点 B 侧室吸收的药量以 $Q_{r_{B_i}}$ 表示;B-A 转运试验中 A 侧为接受室,不同时间点 A 侧室吸收的药量以 $Q_{r_{A_i}}$ 表示。具体计算公式见公式 1 和 2。

$$\text{A-B 转运 } Q_{r_{B_i}} = 0.1 \times (C_{r_1} + C_{r_2} + \dots + C_{r_{(i-1)}}) + 2.5 \times C_{r_i} \quad (\text{公式 1})$$

$$\text{B-A 转运 } Q_{r_{A_i}} = 0.1 \times (C_{r_1} + C_{r_2} + \dots + C_{r_{(i-1)}}) + 1.5 \times C_{r_i} \quad (\text{公式 2})$$

式中,1.5 与 2.5 分别为 A 侧室与 B 侧室所加的缓冲液初始体积(mL),0.1 为取样体积(mL), C_{r_i} 为接受室第 i 个时间点的实测浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.9.2 表观渗透系数 (apparent permeability coefficients, P_{app}) 的计算 基于接受室药物吸收量计算表观渗透系数 P_{app} ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$),计算公式见公式 3^[6]:

$$P_{\text{app}} = \frac{dQ}{dt} \times \frac{1}{A \times C_0} \quad (\text{公式 3})$$

$\frac{dQ}{dt}$ 为单位时间药物转运量($\mu\text{g}\cdot\text{s}^{-1}$),即通透速率,是以时间为横坐标,累计吸收药量为纵坐标所得直线的斜率;A 为 Caco-2 细胞单层膜的表面积(4.71 cm^2); C_0 为供给室中药物的初始浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.9.3 外排比率 (efflux ratio, ER) 外排比率用 $P_{\text{app(B-A)}}$ 与 $P_{\text{app(A-B)}}$ 的比值表示^[6](见公式 4),如该比值大于 2,则表示药物在 Caco-2 细胞中的转运有

方向性,有外排转运体参与。其示意图见图 1。

$$ER = \frac{P_{app}(B-A)}{P_{app}(A-B)} \quad (\text{公式 4})$$

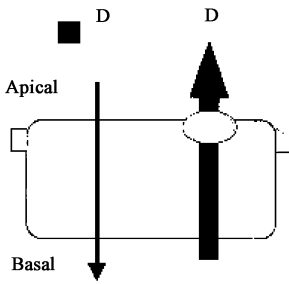


图 1 外排比率 ER 示意图

表 1 蝙蝠葛碱高中低 3 个浓度下双向转运 P_{app} 和 ER 计算 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

蝙蝠葛碱浓度 /mg·L ⁻¹	$P_{app}/\times 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$		ER
	A-B	B-A	
98.60	19.18 ± 0.01	21.27 ± 0.02	1.11 ± 0.09
49.30	6.27 ± 0.02	28.17 ± 0.07	4.49 ± 0.12
24.65	3.50 ± 0.001	25.34 ± 0.05	7.24 ± 0.06

根据公式 1 和 2 计算浓度下,不同时间点蝙蝠葛碱从 A-B 或 B-A 的累积转运量,结果如图 2 所示。可见,随着时间增加,药物累积转运量逐渐增加;蝙蝠葛碱外排累积转运量(B-A 转运)明显高于吸收转运量(A-B 转运) ($P < 0.05$),说明蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞转运存在显著地极化现象,可能有转运体对其有外排作用,即转运机制有主动转运过程参与。

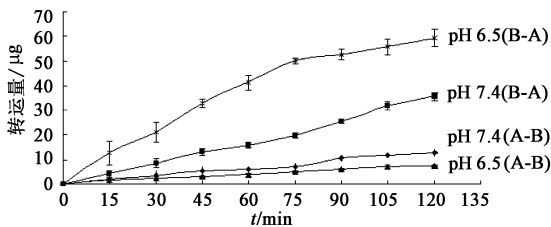


图 2 蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞中的累积转运量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.2 细胞顶侧 pH 对蝙蝠葛碱跨膜转运的影响

考察了顶侧 pH 分别为 7.4 和 6.5 时对蝙蝠葛碱双向转运的影响,其 P_{app} 值和 ER 值分别见表 2。

表 2 顶侧 pH 对蝙蝠葛碱双向转运的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

顶侧 pH	$P_{app}/\times 10^{-6} (\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$		ER
	A-B	B-A	
7.4	6.99 ± 0.21	27.60 ± 0.10	3.95 ± 0.03
6.5	4.09 ± 0.31	37.08 ± 0.12	9.38 ± 0.56

与顶侧 pH 为 7.4 相比,顶侧 pH 为 6.5 时, P_{app} (A-B) 显著减少 ($P < 0.05$), P_{app} (B-A) 显著增加 ($P < 0.05$), ER 值从 9.38 ± 0.56 降为 3.95 ± 0.03,

2.10 统计分析 采用 SPSS 11.5 软件对数据进行单因素方差分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异的比较采用 t 检验。当 $P < 0.05$ 时判定差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞中的双向转运 可见,高浓度下 ER 小于 2,说明高浓度下蝙蝠葛碱的双向转运方向性(极化现象)不明显;中、低两个浓度下的 ER 均大于 2,说明较低浓度下,蝙蝠葛碱的双向转运有明显的方向性,且浓度越低,极化现象越明显,说明可能有外排转运体参与了蝙蝠葛碱的转运。见表 1。

说明顶侧 pH 为 6.5 时,蝙蝠葛碱吸收减少,外排增加。见图 3。

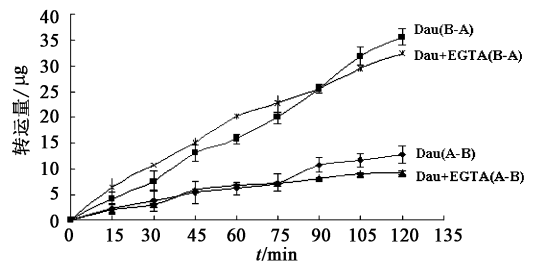


图 3 顶侧不同 pH 对蝙蝠葛碱转运累积量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

当顶侧 pH 为 6.5 时,A-B 转运累积量显著降低 ($P < 0.05$),而 B-A 转运累积量显著增加 ($P < 0.05$),上述结果也说明顶侧 pH 为酸性时,不利于蝙蝠葛碱的吸收转运。

3.3 整合剂 EGTA 对蝙蝠葛碱跨膜转运的影响

加入 EGTA ($25.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 后,蝙蝠葛碱 ($49.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 P_{app} 和 ER 见表 3。

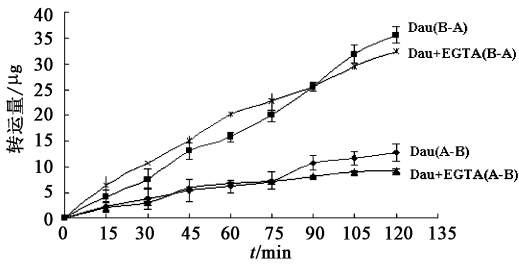
可见,与对照组相比,加入 EGTA 与蝙蝠葛碱共孵育后,无论 A-B 还是 B-A 的 P_{app} 值均没有显著性影响,外排率 ER 也无显著性改变。该结果表明,加入 EGTA 后对蝙蝠葛碱的双向转运无显著影响,说明蝙蝠葛碱的转运途径主要为跨细胞通道转运。

加入整合剂 EGTA 前后对蝙蝠葛碱转运累积量结果见图 4。

可见,与对照组相比,加入 EGTA 与蝙蝠葛碱共孵育后,无论 A-B 还是 B-A 的累积转运量均没有显

表 3 螯合剂 EGTA 对蝙蝠葛碱转运的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

药物	$P_{app} / \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$		ER
	A-B	B-A	
蝙蝠葛碱	6.99 ± 0.21	27.60 ± 0.10	3.95 ± 0.03
蝙蝠葛碱 + EGTA	6.65 ± 1.16	25.36 ± 0.26	3.86 ± 0.54

图 4 EGTA 对蝙蝠葛碱转运累积量的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

著性影响,也说明蝙蝠葛碱的转运途径主要为跨细胞通道转运。

4 讨论

4.1 关于蝙蝠葛碱在 Caco-2 细胞中的双向转运

ER 被用于评价药物在 Caco-2 细胞中的转运是否有方向性,ER 接近于 1 时,药物以被动扩散方式转运;ER 远小于 1 时,药物被小肠顶侧膜的转运载体所摄取;而 ER 远大于 1 时(一般 > 2),药物被小肠顶侧膜的转运蛋白外排。本实验测得蝙蝠葛碱低和中浓度时的 ER 值均大于 2,说明蝙蝠葛碱的双向转运有方向性,其跨膜吸收过程中可能有外排转运体参与,其吸收机制不是单纯的被动扩散,有主动过程参与。另外,实验发现药物浓度越低,其 ER 值越高,外排效果越明显,造成该现象的原因可能是因为转运体对药物的转运均有饱和现象,当药物浓度偏高时,转运出现饱和,从而导致外排作用减弱。

4.2 pH 梯度对药物 Caco-2 细胞双向转运的影响

实验结果表明偏碱性环境较弱酸性环境易于吸收。该现象与 pH 分配理论是一致的。pH 分配理论认为,通常未解离型脂溶性较大药物易透过生物膜,而解离后的离子型药物不易透过,当 pH 从 6.5 到 7.4 时,呈弱碱性的蝙蝠葛碱分子型比例增加,药物更易以被动扩散透过生物膜。

4.3 蝙蝠葛碱的细胞转运途径

肠上皮细胞之间通过紧密连接、间隙连接以及桥粒等方式相互连接,这种相互连接为动态结构,其完整性依赖 Ca^{2+} 的存在。EGTA 是选择性 Ca^{2+} 螯合剂^[7],存在于转运介质中 EGTA 能够将细胞间的紧密连接打开,因此能够使经细胞间通道转运的药物的转运能力增加。由

于脂溶性较强的药物可迅速的分配进入细胞膜,因此连接复合体的开放对脂溶性较强药物的跨膜转运作用不大。本实验采用 EGTA 来降低 Ca^{2+} 浓度,以降低细胞间紧密连接。实验结果显示,与对照组相比,加入 EGTA 与蝙蝠葛碱共孵育后,无论 A-B 还是 B-A 方向的 P_{app} 均没有显著性影响,ER 也无显著性改变。说明蝙蝠葛碱的转运途径主要为跨细胞通道转运。

[参考文献]

- [1] 管思明. 蝙蝠葛碱对心肌电生理和肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶的效应及其与汉防己甲素比较研究[J]. 中华心律失常学杂志,1999,3(4):286.
- [2] 陈淑娟,杨毅梅,刘奕明,等. 蝙蝠葛碱大鼠体内药物代谢动力学研究[J]. 中国药理学通报,2001,17(2):225.
- [3] 马博,孙桂波,杨志宏,等. 肠上皮细胞模型不同培养条件的优化及适应性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):205.
- [4] 杨娜,隋峰,李沧海,等. 大黄酸对 Caco-2 细胞多药耐药蛋白转运体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):133.
- [5] Lian Z, Kiho L, Dhiren R T. Enhanced permeability of the antimicrobial agent 2,5-Bis(4-amidinophenyl) furan across Caco-2 cell monolayers via its methylamidoxime prodrug[J]. Pharmaceut Res, 2002, 19(11):1689.
- [6] Andrew C, Jolanta T H, David H, et al. Predicting P-glycoprotein effects on oral absorption: correlation of transport in Caco-2 with drug pharmacokinetics in wild-type and *mdr1a*(-/-) mice *in vivo* [J]. Pharmaceut Res, 2004, 21(5):819.
- [7] P Artursson, C Magnusson. Epithelial transport of drugs in cell culture. II: Effect of extracellular calcium concentration on the paracellular transport of drugs of different lipophilicities across monolayers of intestinal epithelial (Caco-2) cells [J]. J Pharm Sci, 1990, 79:595.

[责任编辑 聂淑琴]