

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.08.009

Caco-2 细胞模型中头花蓼提取液对左氧氟沙星吸收的影响*

蒙文莎^{1,2},袁丽^{1,2},王朴^{1,2},郑林¹,巩仔鹏¹,李月婷¹,王爱民³,黄勇^{1,△}

(1. 贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室·药用植物功效与利用国家重点实验室,贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学药学院,贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心,贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 探讨 Caco-2 细胞模型中头花蓼提取液对左氧氟沙星吸收的影响。方法 取直肠腺癌 Caco-2 细胞,培养至屏障模型形成。以 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 mg/mL 的头花蓼提取液和 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 $\mu\text{mol/L}$ 左氧氟沙星溶液分别作用 Caco-2 细胞 24 h, 采用细胞增殖检测法检测细胞活力。以筛选出的上述 2 种药液最大安全浓度分别及同时作用于 Caco-2 细胞 1 h, 采用超高效液相色谱串联质谱法检测细胞中头花蓼提取液所含没食子酸、原儿茶酸及左氧氟沙星的含量。结果 头花蓼提取液和左氧氟沙星的最大安全浓度分别为 1 mg/mL 和 160 $\mu\text{mol/L}$ 。两药合用时左氧氟沙星的细胞摄取量为 $(3.903 \pm 0.394) \mu\text{g/g}$, 显著少于其单用时的 $(5.895 \pm 0.663) \mu\text{g/g}$ ($P < 0.01$); 两药合用时没食子酸和原儿茶酸细胞摄取量分别为 $(0.076 \pm 0.015) \mu\text{g/g}$ 和 $(0.060 \pm 0.008) \mu\text{g/g}$, 分别少于两药单用时的 $(0.094 \pm 0.022) \mu\text{g/g}$ 和 $(0.074 \pm 0.018) \mu\text{g/g}$, 但无显著差异 ($P > 0.05$)。结论 头花蓼提取液能显著减少左氧氟沙星在 Caco-2 细胞中的吸收, 而左氧氟沙星对头花蓼提取液的吸收无显著影响。

关键词: Caco-2 细胞; 超高效液相色谱串联质谱法; 头花蓼提取液; 左氧氟沙星; 吸收

中图分类号: R965; R285

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)08-0037-06

Effect of *Polygonum Capitatum* Extract Solution on the Absorption of Levofloxacin in Caco-2 Cell Model

MENG Wensha^{1,2}, YUAN Li^{1,2}, WANG Pu^{1,2}, ZHENG Lin¹, GONG Zipeng¹, LI Yueting¹, WANG Aimin³, HUANG Yong¹

(1. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics · State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, China 550004; 2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, China 550004; 3. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and Traditional Chinese Medicine of Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, China 550004)

Abstract: Objective To investigate the effect of *Polygonum capitatum* extract solution on absorption of levofloxacin in Caco-2

*基金项目: 国家自然科学基金[81760675, U1812403]; 贵州省科技计划项目[黔科合支撑[2019]2777号, 黔科合[2019]5660]; 贵州省教育厅项目[黔教合KY字[2017]073]; 贵州省贵阳市科技计划项目[筑科合同[2017]30-29号]。

第一作者: 蒙文莎, 女, 水族, 在读硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及质量控制, (电子信箱)mengwensha616@126.com。

△通信作者: 黄勇, 男, 汉族, 教授, 研究方向为中药药效物质基础及质量控制, (电子信箱)HUANGY2020@126.com。

- and Antioxidant Properties of Probiotic Bacterium *Lactobacillus mucosae* AN1 and *Lactobacillus fermentum* SNR1 in Wistar Albino Rats[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9:3063.
- [11] WANG C, ZHU Y, LI F, et al. The Effect of *Lactobacillus* isolates on growth performance, immune response, intestinal bacterial community composition of growing Rex Rabbits [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2017, 101(5):e1-e13.
- [12] YONG SJ, TONG T, CHEW J, et al. Antidepressive Mechanisms of Probiotics and Their Therapeutic Potential[J]. *Front Neurosci*, 2020, 13:1361.
- [13] MOU H, YANG F, ZHOU J, et al. Correlation of liver function with intestinal flora, vitamin deficiency and IL-17A in patients with liver cirrhosis[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(5):4082-4088.
- [14] 赵颖超, 戴军有, 郭欣君. 复方丹参滴丸联合重组人尿激酶原治疗急性 ST 段抬高型心肌梗死临床研究[J]. *中国药业*, 2019, 28(8):33-35.
- [15] 靳春鹏, 杨套伟, 徐美娟, 等. 谷氨酸脱羧酶基因工程改造研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(12):227-233.
- [16] 张晓雪, 刘君, 梁少兰, 等. GABA 及其受体在心肌梗死缺血再灌注损伤中的心肌保护机制研究[J]. *现代医院*, 2020, 20(11):1677-1681.
- [17] 王堃. 针刺心经对心肌缺血模型大鼠海马 CA1 区神经递质含量的影响[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2018.
- [18] CASPANI G, KENNEDY S, FOSTER JA, et al. Gut microbial metabolites in depression: understanding the biochemical mechanisms[J]. *Microb Cell*, 2019, 6(10):454-481.
- [19] 郑淑芬, 吴圆圆, 钟诗龙. 基于肠道菌群参与的冠心病色氨酸代谢通路研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(20):3362-3366.
- [20] KRISHNAN S, DING Y, SAEIDI N, et al. Gut Microbiota-Derived Tryptophan Metabolites Modulate Inflammatory Response in Hepatocytes and Macrophages[J]. *Cell Rep*, 2018, 23(4):1099-1111.

(收稿日期: 2021-07-21; 修回日期: 2021-10-13)

cell model. **Methods** Caco-2 cells of rectal adenocarcinoma were collected and cultured until the formation of the monolayer cells, then they were treated with *Polygonum capitatum* extract solution of 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 mg/mL and levofloxacin solution of 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 $\mu\text{mol/mL}$ for 24 h respectively, the activity of cells were tested by cell proliferation assay. Caco-2 cells were treated respectively and simultaneously for 1 h by the largest safe concentration of the two solutions which were screened out. The content of gallic acid, protocatechuic acid in *Polygonum capitatum* extract solution and levofloxacin of Caco-2 cells was determined by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Results** The largest safe concentration of *Polygonum capitatum* extract solution and levofloxacin were 1 mg/mL and 160 $\mu\text{mol/mL}$ respectively. When the two drugs were used together, the cell absorption of levofloxacin was $(3.903 \pm 0.394) \mu\text{g/g}$, which was significantly less than when levofloxacin was used alone of $(5.895 \pm 0.663) \mu\text{g/g}$ ($P < 0.01$). When the two drugs were used together, the cell absorption of gallic acid and protocatechuic acid were $(0.076 \pm 0.015) \mu\text{g/g}$ and $(0.060 \pm 0.008) \mu\text{g/g}$, which were lower than when they were used alone of $(0.094 \pm 0.022) \mu\text{g/g}$ and $(0.074 \pm 0.018) \mu\text{g/g}$ respectively, but the differences were not significant ($P > 0.05$). **Conclusion** *Polygonum capitatum* extract solution can significantly reduce the absorption of levofloxacin in Caco-2 cells, but levofloxacin has no significant effect on the absorption of *Polygonum capitatum* extract solution.

Key words: Caco-2 cells; UPLC-MS/MS; *Polygonum capitatum* extract solution; levofloxacin; absorption

左氧氟沙星为第3代氟喹诺酮类抗菌药物,对革兰阳性菌和革兰阴性菌均有广谱活性,临床主要用于治疗呼吸道和泌尿道感染^[1]。头花蓼为苗族传统药用植物头花蓼的全草,具有利尿通淋、清热利湿、活血散瘀等功效^[2],对尿路感染有较好疗效,其所含多酚化学成分没食子酸和原儿茶酸具有抗氧化、抗菌、抗炎等作用^[3-5]。目前以头花蓼为原料药已上市的苗药制剂有四季草颗粒、热淋清颗粒等,其中热淋清颗粒是以头花蓼水提物制成的单方制剂,对泌尿系统感染具有独特疗效^[6]。热淋清颗粒常与左氧氟沙星联用治疗前列腺炎、急性附睾炎等泌尿道感染,与单独使用相比,联用后具有起效快、不良反应少、用药周期短、治愈率高等优点^[7-9],但两药联用后是否发生药物相互作用尚未见报道。本课题组前期的药物代谢动力学研究发现,与单用左氧氟沙星相比,头花蓼提取液和左氧氟沙星联用后,左氧氟沙星的平均驻留时间(MRT)、血药浓度达峰时间($t_{\max}$)、表观清除率($CL_{z/F}$)和表观分布容积($V_{z/F}$)均显著增加,而其药-时曲线下面积($AUC_{0-\infty}$)和峰浓度($C_{\max}$)均显著降低,表明两药联用后发生了药物相互作用^[10]。为此,本研究中以没食子酸和原儿茶酸作为头花蓼提取物的指标性成分,考察头花蓼提取液与左氧氟沙星联用后对两药在Caco-2细胞模型中吸收的影响^[11-14],从而为两药的临床使用提供参考。现报道如下。

1 仪器、试药与细胞

仪器: ACQUITY UPLC I-Class/Xevo TQ-S型超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪,包括自动进样器,二元梯度泵,柱温箱,真空脱气机,MassLynx 4.1质谱工作站(美国Waters公司); Model 680型酶标仪(伯乐生命医学产品(上海)有限公司); TS-100F型倒置显微镜(日本Nikon公司); Millipore Millicell ERS. 2型细

胞电阻仪(美国Millipore公司); 8000DH型CO₂培养箱、超低温冰箱(美国Thermo Fisher Scientific公司); 超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司); Transwell培养板(聚碳酸酯膜,孔径0.4 μm ,直径12 mm,美国Coming公司); MTN-2800D型氮气吹干仪装置(天津奥特塞恩斯仪器有限公司); KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

试药: 头花蓼提取物(本课题组提取^[15]); 左氧氟沙星对照品(批号为130455-201607,含量97.3%), 葛根素对照品(批号为110752-201512,含量98.0%), 原儿茶酸对照品(批号为110809-201604,含量90.8%), 没食子酸对照品(批号为110831-201605,含量98.0%), 均购自中国食品药品检定研究院; BCA蛋白定量试剂盒(上海索莱宝生物有限公司,批号为20190603); 细胞增殖(MTS)试剂盒(普洛麦格生物有限公司,批号为0000383823); 澳洲胎牛血清(批号为2279804CP), 链-青霉素(批号为15140122), 胰酶消化液(批号为C25200056), DMEM高糖培养基(批号为C11995500BT), 均购自美国Gibco公司; 其余试剂均为分析纯; 水为超纯水。

细胞株: 结直肠腺癌Caco-2细胞株(中科院上海细胞库)。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 溶液制备

头花蓼提取液: 取头花蓼提取物500 mg, 精密称定, 加入4 950 μL 磷酸盐缓冲液(PBS)和50 μL 的二甲基亚砜(DMSO), 制备成质量浓度为100 mg/mL的头花蓼溶液, 置-20 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏, 备用。

左氧氟沙星溶液: 取左氧氟沙星对照品90 mg, 加入

2 970 μL PBS和30 μL DMSO,制备成质量浓度为30 mg/mL (83 017 $\mu\text{mol}/\text{L}$)的左氧氟沙星溶液,置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏,备用。

对照品溶液和内标溶液:取原儿茶酸、没食子酸、左氧氟沙星对照品各适量,精密称定,置容量瓶中,并用甲醇定容至10 mL ,得原儿茶酸(0.831 mg/mL),没食子酸(1.002 mg/mL),左氧氟沙星(1.002 mg/mL)单一对照品溶液。取葛根素对照品4.95 mg ,精密称定,用50%甲醇定容至10 mL ,得葛根素(0.495 mg/mL)对照品溶液;取适量,置100 mL 容量瓶中,用50%甲醇定容,制备成质量浓度为20 ng/mL 的内标溶液,置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏,备用。

空白细胞悬液:取Caco-2细胞适量,接种于含10%胎牛血清和1%链-青霉素的高糖DMEM培养液中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。待细胞生长约80%时,用0.25%胰蛋白酶消化液消化细胞,按 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 密度接种于6孔培养板,每孔2 mL ,1周内隔天换液1次,1周后每天换液1次,连续14 d,复制屏障模型细胞^[16-21]。取模型细胞,用Hanks缓冲液洗去细胞表面杂质,加入超纯水2 mL ,反复冻融裂解细胞,收集细胞悬液,置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,待用。

样品溶液:取细胞悬液500 μL ,加入20 ng/mL 内标溶液50 μL ,再加入500 μL 甲醇沉淀蛋白,涡旋超声(功率500 W,频率40 kHz)处理10 min,12 000 r/min 离心10 min,取上清液置离心管中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 N_2 吹干;200 μL 50%甲醇水溶液互溶,涡旋超声10 min,12 000 r/min 离心10 min,取上清液,即得。

2.1.2 试验条件

色谱条件:色谱柱为Waters BEH C_{18} 柱(50 $\text{mm}\times 2.1\text{ mm}$,1.7 μm);保护柱为Waters Van Guard BEH C_{18} 柱(5 $\text{mm}\times 2.1\text{ mm}$,1.7 μm);流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈(B),梯度洗脱(0~0.3 min时90% A,0.3~1 min时90% A $\rightarrow$ 85% A,1~2 min时85% A $\rightarrow$ 90% A,2~3 min时90% A,3~4 min时90% A $\rightarrow$ 10% A);流速为0.30 mL/min ;柱温为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样体积为1 μL 。

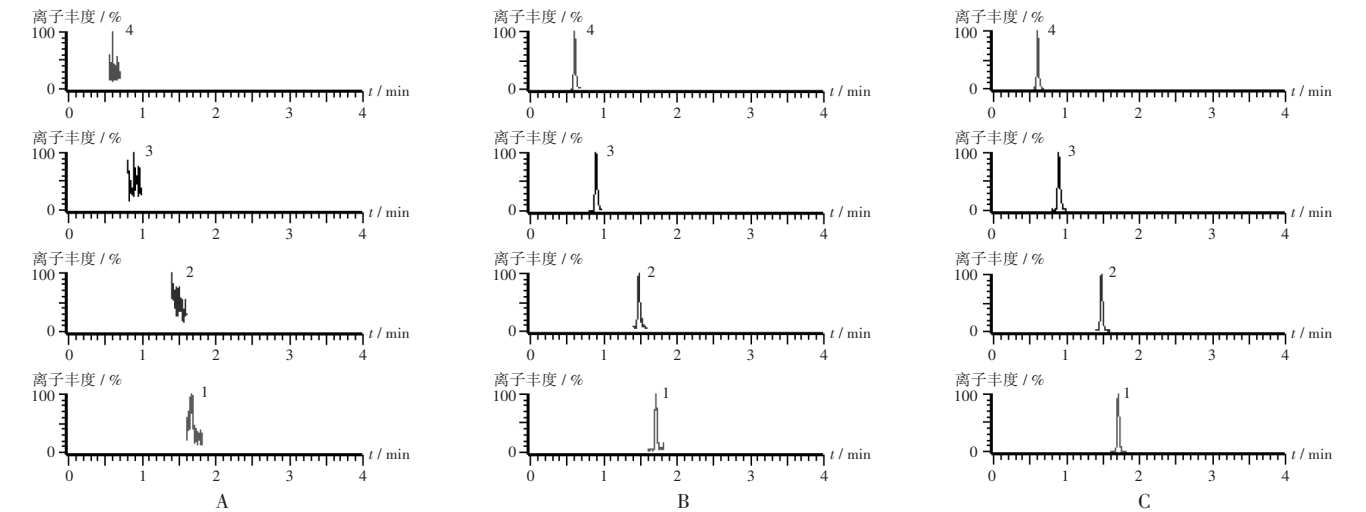
质谱条件:电喷雾电离源(ESI),正、负离子模式;毛细管电压为2.0 kV ,离子源温度为 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$;喷雾气与反吹气为 N_2 ,去溶剂气流速为800 L/h ,去溶剂气温度为 $400\text{ }^{\circ}\text{C}$,多反应监测(MRM)扫描方式,质谱数据采集及处理软件为MassLynx 4.1质谱工作站。待测成分及内标的质谱条件见表1。色谱图见图1。

表1 待测成分及内标的质谱条件

Tab.1 Mass spectrometry conditions of components to be tested and internal standard					
待测成分	ESI	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能(V)
没食子酸	-	169.10	125.09	30	15
原儿茶酸	-	152.90	109.00	35	15
左氧氟沙星	+	362.20	261.10	20	10
葛根素	+	417.00	267.00	40	30

2.1.3 方法学考察

精密量取2.1.1项下各单一对照品溶液适量,分别量取适量空白细胞悬液加入,用甲醇倍比稀释,制成系列混合对照品溶液,按“2.1.1样品溶液处理”项下方法



1. 左氧氟沙星 2. 葛根素 3. 原儿茶酸 4. 没食子酸

A. 空白细胞悬液 B. 空白细胞悬液+对照品溶液 C. 细胞摄取样品

图1 超高效液相色谱质谱串联色谱图

1. Levofloxacin 2. Puerarin 3. Protocatechuic acid 4. Gallic acid

A. Blank cell suspension B. Blank cell suspension+ reference solution C. Samples solution after cell absorption

Fig.1 UPLC-MS/MS chromatograms

表 2 回归方程、线性范围、定量限

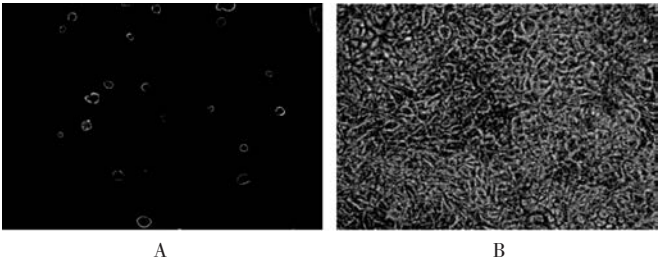
Tab. 2 Regression equations, linear ranges and LOQs

化合物	回归方程	<i>r</i>	线性范围 (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
没食子酸	$Y_1 = 0.0172X_1 - 0.0127$	0.9987	5.01~501.00	5.01
原儿茶酸	$Y_2 = 0.0243X_2 - 0.0133$	0.9991	0.98~99.75	0.98
左氧氟沙星	$Y_3 = 0.0117X_3 - 0.0346$	0.9993	5.01~501.00	5.01

操作,按 2.1.2 项下试验条件进样测定,以待测成分质量浓度(X , ng/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,按相关规定计算定量限^[15]。回归方程与线性范围、定量限见表 2。并进行精密度、稳定性、提取回收试验。结果 3 种待测成分日内精密度的 RSD 为 3.53%~11.69% ($n=6$),日间精密度的 RSD 为 4.22%~13.23% ($n=6$);样品室温下放置 1,2,3 d 时仪器响应值的 RSD 均小于 15% ($n=5$);提取回收率为 87.06%~105.59%。

2.2 细胞形态观察

取 2.1.1 项下空白细胞悬液中模型细胞,显微镜下观察,可见细胞生长均匀,边界清晰,成单层膜状态。详见图 2。



A. 培养 2 d B. 培养 14 d

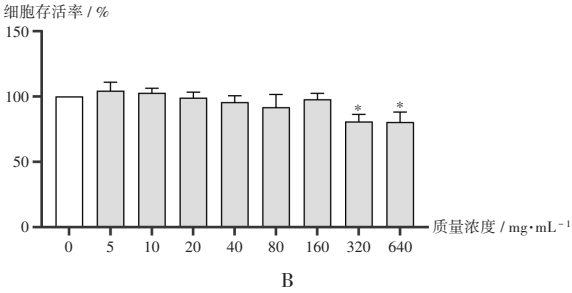
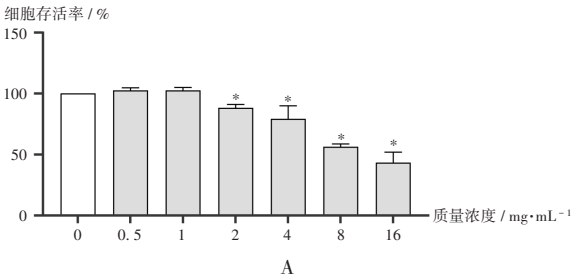
图 2 Caco-2 细胞一般形态

A. Culture for 2 d B. Culture for 14 d

Fig. 2 General morphology of Caco-2 cells

2.3 Caco-2 细胞毒性考察

取生长状态良好的 Caco-2 细胞适量,以每孔 100 μ L, 1×10^5 mL⁻¹ 的密度接种于 96 孔板中,在 37 $^{\circ}$ C 及 5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h。试验分为空白对照组、给药组。空白对照组加入完全培养基溶液(10% 胎牛血清 + 1% 链-青霉素 + 89% 高糖 DMEM 培养基);给药组分别加入 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 5.0, 8.0, 16.0 mg/mL 头花蓼提取液和 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 μ mol/mL 左氧氟沙星溶液,每孔 100 μ L,培养 24 h 后,用 MTS 法考察头花蓼提取液和左氧氟沙星对 Caco-2 细胞的安全性。每个浓度平行 6 个孔,重复操作 3 次。结果见图 3。可见,头花蓼提取液质量浓度在 0~1 mg/mL 时对细胞存活率无显著影响, > 1 mg/mL 时有一定影响。故选择 1 mg/mL 作为给药质量浓度;左氧氟沙星质量浓度在 0~160 μ mol/mL 范围时对细胞存活率无明显影响, > 160 μ mol/mL 时有一定影响。故选择 160 μ mol/mL 作为给药质量浓度。



A. 头花蓼提取液 B. 左氧氟沙星

图 3 药物对 Caco-2 细胞存活率的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=6$)

注:与 0 mg/mL 比较, * $P < 0.01$ 。图 4 同。

A. Polygonum capitatum extract solution B. Levofloxacin

Fig. 3 Effect of drugs on survival rate of Caco-2 cells ($\bar{X} \pm s$, $n=6$)

Note: Compared with 0 mg/mL, * $P < 0.01$ (for Fig. 3-4).

2.4 细胞摄取试验

取 2.2 项下模型细胞,用 Hanks 缓冲液(HBSS)洗去表面杂质。实验分为 3 组,头花蓼提取液组(A 组)加入 1 mg/mL 头花蓼提取液 2 mL;左氧氟沙星给药组(B 组)加入 160 μ mol/mL 左氧氟沙星溶液 2 mL;头花蓼提取液与左氧氟沙星合用组(C 组)加入 1 mg/mL 头花蓼提取液和 160 μ mol/mL 左氧氟沙星溶液共 2 mL,在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 1 h,取出,加入 4 $^{\circ}$ C 超纯水终止试验,并快速用超纯水清洗 3 遍细胞单分子层,最后每孔加入 2 mL 超纯水。反复冻融裂解细胞,取出细胞,超声处理 10 min,得细胞悬液,按“2.1.2 样品处理方法”项处理,进样分析并计算摄取量。另取 10 μ L 的细胞悬液,采用 BCA 法测定蛋白含量。摄取量 = 药物(μ g)/蛋白(g)。结果见图 4。可见,左氧氟沙星与头花蓼提取液合用后,左氧氟沙星的细胞摄取量为 $(3.903 \pm 0.394) \mu$ g/g 显著少于单用时的 $(5.895 \pm 0.663) \mu$ g/g ($P < 0.01$);头花蓼提取液指标性成分没食子酸和原儿茶酸合用后的细胞摄取量分别为 $(0.076 \pm 0.015) \mu$ g/g 和 $(0.060 \pm 0.008) \mu$ g/g,少于单用时的 $(0.094 \pm 0.022) \mu$ g/g 和 $(0.074 \pm 0.018) \mu$ g/g,但无显著差异($P > 0.05$)。

3 讨论

药物是基于细胞内众多特定靶点而设计的分子实体,必须通过多重生物屏障,与胞内靶点结合,才能发挥效应。传统药物代谢动力学仅以血药浓度表征药物作用浓度,不能完全反映真实的药物效应,故迫切

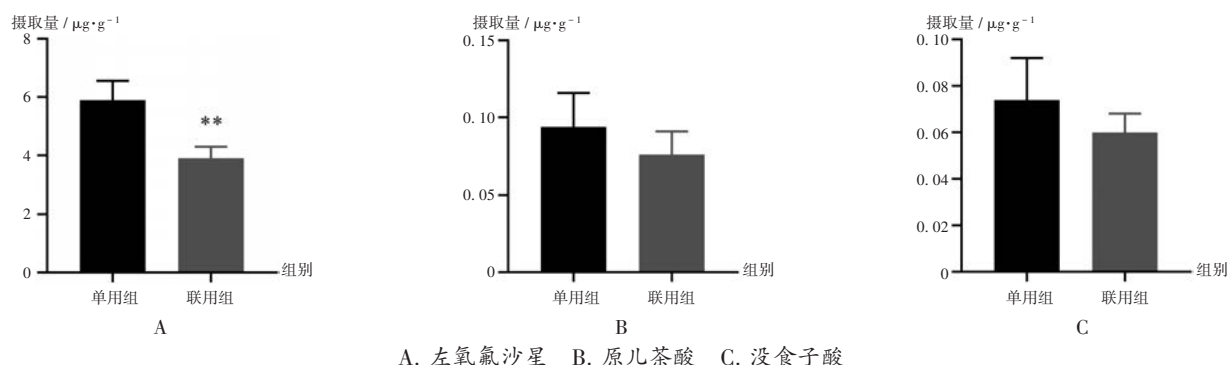


图4 左氧氟沙星与头花蓼提取液联用前后3种成分的细胞摄取量比较($\bar{X} \pm s, n=5$)

A. Levofloxacin B. Protocatechuic acid C. Gallic acid

Fig. 4 Comparison of cell absorption of three compounds before and after levofloxacin combined with *Polygonum capitatum* extract solution ($\bar{X} \pm s, n=5$)

需要将传统、宏观的药物代谢动力学研究拓展到细胞/亚细胞水平进入靶细胞的药物代谢动力学研究。

本研究中,头花蓼提取液与左氧氟沙星合用后,左氧氟沙星在Caco-2细胞中的摄取量减少,而头花蓼提取液中指标性成分没食子酸和原儿茶酸在Caco-2细胞中的摄取未受明显影响。其原因可能为,化学药物常具有明确的作用靶部位/靶点,而中药重在调理机体的功能状态,通过调控靶部位的生理状态,创造更有利于化学药物代谢处置、发挥药效的微环境。左氧氟沙星为P糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白(MRP)、乳腺癌耐药蛋白(BCRP)等外排蛋白的底物^[22-23],头花蓼提取液可能通过调控Caco-2细胞的生理状态从而诱导了上述外排蛋白的活性,将左氧氟沙星从细胞中外排,降低了其在细胞内的浓度。中药发挥作用是多组分多靶点产生的协同效果,而化学药具有明确的作用靶点,故左氧氟沙星不能显著影响头花蓼提取液的摄取。两药联用的具体机制有待下一步研究证实。

综上所述,头花蓼提取液能显著降低左氧氟沙星在Caco-2细胞中的吸收,而左氧氟沙星对头花蓼提取液的吸收无影响。该研究可为两药的临床使用提供参考。

参考文献

- [1] KEAM SJ, CROOM F, KEATING GM. Levofloxacin: a review of its use in the treatment of bacterial infections in the United States[J]. *Drugs*, 2003, 63(24):2769-2802.
- [2] 国家中医药管理局,《中华本草》编委会. 中华本草·苗药卷[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2005:223-224.
- [3] 闫杏莲,李昌勤,刘瑜新,等. 头花蓼抗氧化活性研究[J]. *中国药房*, 2010, 21(39):3659-3661.
- [4] 王培卿,张榕楠,刘瑜新,等. 9种蓼科植物抗菌活性[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(17):109-112.
- [5] LIAO SG, ZHANG LJ, SUN F, et al. Antibacterial and anti-

inflammatory effects of extracts and fractions from *Polygonum capitatum* [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 134(3): 1006-1009.

- [6] 李孟林. 贵州威门药业建成国内首个头花蓼 GAP 规范化种植基地[J]. *中国药房*, 2006, 17(14):1097.
- [7] 齐之迎,尹利荣. 热淋清颗粒联合诺氟沙星治疗妇科阴式手术后泌尿系感染的临床观察[J]. *中国医刊*, 2014, 49(5):98-99.
- [8] 谢永强. 热淋清颗粒联合加替沙星对慢性细菌性前列腺炎的作用分析[J]. *中国初级卫生保健*, 2018, 32(3):88-89.
- [9] 钱书武. 莫西沙星联合热淋清颗粒治疗非淋菌性尿道炎的临床分析[J]. *吉林医学*, 2011, 32(6):1116-1117.
- [10] CHEN H, YUAN L, MA X, et al. Herb-drug interaction: The effect of *Polygonum capitatum* extract on pharmacokinetics of levofloxacin in rats [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2021, 195:113832.
- [11] 杨建波,姚佳,杨洁. 药物体外 ADME 筛选模型[J]. *药学进展*, 2004, 28(4):163-168.
- [12] 刘青春,赵军宁,彭伟,等. 药物 ADME 体外筛选模型及其在中药研究中的应用[J]. *中成药*, 2009, 31(3):453-457.
- [13] 王琳,陈涵. 药物体外吸收、分布、代谢和排泄筛选模型[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(50):9957-9961.
- [14] 张向荣,潘卫三. 丹参酚酸 A 在大鼠小肠的吸收动力学研究[J]. *沈阳药科大学学报*, 2002, 19(1):14-17.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:1454.
- [16] 张磊,曾丹,郑媛嘉,等. 黄芪提取物对结肠腺癌 Caco-2 细胞葡萄糖吸收的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(24):145-149.
- [17] 杨淑婷,潘洁,陆苑,等. 白及有效部位中主要成分在 Caco-2 细胞中的吸收特性研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(1):167-174.
- [18] 胡兴萍,胡咏梅,张磊,等. 左氧氟沙星在人胃黏膜上皮细胞中的摄取特征[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(8): 693-695.
- [19] 王素莲,黄荳,杨发有,等. 藏花酸在 Caco-2 细胞模型中的吸收转运研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(15): 1894-1897.

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.08.010

伪三元相图结合 CCD 响应面法优化辛夷油微乳处方*

黄琼¹, 李媛媛¹, 石锦峰¹, 许锦涛¹, 董自波^{1,2Δ}

(1. 江苏海洋大学药学院, 江苏 连云港 222005; 2. 江苏省海洋药用资源开发工程研究中心, 江苏 连云港 222005)

摘要:目的 优选辛夷油微乳处方。方法 以辛夷油为油相、蒸馏水为水相,借助伪三元相图,选择合适的乳化剂和助乳化剂及其配比范围;以油相质量分数、固定乳化剂与助乳化剂比例(K_m 值)为考察因素,以乳滴粒径及聚合物分散性指数(PDI)为评价指标,采用中心复合设计响应面法优选上述两因素的最佳比例。结果 优选的辛夷油微乳处方为以辛夷油为油相、聚氧乙烯醚蓖麻油为乳化剂、PEG400为助乳化剂,三者比例为34.39:30.71:34.90。所得微乳的理论平均粒径为44.34 nm, PDI为0.250。结论 优选的辛夷油微乳处方客观、合理、稳定、可靠。

关键词:辛夷油微乳;伪三元相图;中心复合设计响应面法;处方优化

中图分类号:R943

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)08-0042-05

Optimization of the Prescription of Magnoliae Flos Oil - Based Microemulsion by Pseudo - Ternary Phase Diagram Combined with CCD Response Surface Method

HUANG Qiong¹, LI Yuanyuan¹, SHI Jinfeng¹, XU Jintao¹, DONG Zibo^{1,2}

(1. Department of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu, China 222005; 2. Jiangsu Marine Pharmaceutical Resources Development Engineering Research Center, Lianyungang, Jiangsu, China 222005)

Abstract: Objective To optimize the prescription of Magnoliae Flos oil - based microemulsion. **Methods** Appropriate emulsifier and co - emulsifier and their ratio range were selected by pseudo - ternary phase diagram with the Magnoliae Flos oil as oil phase and the distilled water as water phase. The mass fraction of oil phase, the ratio of fixed emulsifier and co - emulsifier (K_m value) as investigation factors, the best ratio of them was optimized by central composite design (CCD) response surface method with the droplet size and polymer dispersity index (PDI) as evaluation indexes. **Results** The optimal Magnoliae Flos oil - based microemulsion prescription was as follows: Magnoliae Flos oil as oil phase, polyoxyethylene ether castor oil as emulsifier, PEG400 as co - emulsifier, the ratio of them was 34.39:30.71:34.90. The theoretical average particle size of microemulsion was 44.34 nm, PDI was 0.250. **Conclusion** The optimal Magnoliae Flos oil - based microemulsion prescription has the good advantage of objectivity, rationality, stability and reliability.

Key words: Magnoliae Flos oil - based microemulsion; pseudo - ternary phase diagram; central composite design response surface method; prescription optimization

辛夷具有散风寒、通肺窍功效,主治风寒头痛、鼻塞、鼻渊、鼻流涕等症,其药用成分主要集中于挥发油中^[1]。微乳(ME)是油相、水相、乳化剂、助乳化剂按一定比例混合,自发形成的各向同性、热力学稳定的体系,粒径为10~100 nm,可提高水难溶性及脂溶性药物的溶解

度,粒径小且分布均匀,提高生物利用度,增强稳定性,且存储方便^[2-3]。将挥发油与一定比例的乳化剂与助乳化剂制成水包油型微乳(O/W),可改善前者的溶解性,使其在体内维持恒定有效的血药浓度^[4-5]。中心复合设计(CCD)响应面法集数学和统计学方法为一体,具有显

*基金项目:江苏省教育厅高校优秀科技创新团队项目[苏教科函[2019]7号]。

第一作者:黄琼,女,在读硕士研究生,研究方向为中药制剂工艺及质量控制,(电子信箱)hqzz0703@163.com。

Δ通信作者:董自波,男,博士研究生,研究员,研究方向为抗炎免疫调控机制、中药新剂型及新药开发、中成药经典方组方优化与二次开发,(电子信箱)dongzibo999@163.com。

[20] 鲍峻峻,许建明,胡咏梅,等. 左氧氟沙星经胃转运、分布特点的研究[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(1):90-96.

[21] 胡咏梅,张珊珊,张磊,等. Ussing chamber 技术评价 P-糖蛋白及有机阳离子转运体对左氧氟沙星跨胃黏膜转运的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(17):1732-1735.

[22] BAIETTO L, CORCIONE S, PACINI G, et al. A 30 - years review on pharmacokinetics of antibiotics: is the right time for

pharmacogenetics? [J]. Current Drug Metabolism, 2014, 15(6):581-598.

[23] MERINO G, ALVAREZ AI, PULIDO MM, et al. Breast cancer resistance protein (BCRP / ABCG2) transports fluoroquinolone antibiotics and affects their oral availability, pharmacokinetics, and milk secretion [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34(4):690-695.

(收稿日期:2021-07-07;修回日期:2021-10-11)