

大鼠在体单向肠灌注模型研究异绿原酸 A 的肠吸收特性

程漩格, 王素军*, 曾洁, 钟运鸣, 黄丽花
(广东药学院临床药理学系, 广州 510006)

[摘要] 目的:研究异绿原酸 A 在大鼠肠道吸收特性。方法:以酚红为标示物,采用大鼠在体单向肠灌注模型研究异绿原酸 A 3 个质量浓度组(18,58,100 mg·L⁻¹)在大鼠的十二指肠、空肠、回肠及结肠的吸收情况。结果:异绿原酸 A 在低、中、高 3 个浓度下,在十二指肠段、空肠、回肠与结肠段的有效渗透系数(P_{eff})在(0.69~6.64) × 10⁻⁵ cm·s⁻¹ 内,且随浓度增加,有上升趋势,具有显著性差异($P < 0.05$),在回肠的 P_{eff} 显著大于其他肠段,由此可推断回肠段是异绿原酸 A 的最佳吸收部位。结论:异绿原酸 A 在考察浓度范围内,吸收无自身浓度抑制作用,以被动扩散方式吸收,有特殊的吸收窗。

[关键词] 异绿原酸 A; 单向肠灌注模型; 吸收

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0108-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180108

Absorption Characteristics of Isochlorogenic Acid A in Rat Intestine Using *in situ* Single-pass Perfusion Model

CHENG Xuan-ge, WANG Su-jun*, ZENG Jie, ZHONG Yun-ming, HUANG Li-hua
(Clinical pharmacy Department of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the absorption of isochlorogenic acid A in rat intestine. **Method:** The absorptions of three concentrations (18, 58, 100 mg·L⁻¹) of isochlorogenic acid A in different intestinal segments were studied with phenol red as the marker by *in situ* rats single pass perfusion model. **Result:** Effective permeability (P_{eff}) of duodenum, jejunum, ileum and colon in different concentration of isochlorogenic acid A was in (0.69-6.64) × 10⁻⁵ cm·s⁻¹, and there was upgrade tendency between the P_{eff} of duodenum, jejunum, ileum and colon in different concentration of isochlorogenic acid A, and it has obvious difference among each

[收稿日期] 20140307(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073141);广东省“十二五”医学重点学科(依托广东药学院附属第一医院、药科学院)

[第一作者] 程漩格,硕士研究生,从事中药药理与药动学研究,E-mail:cxg717@hotmail.com

[通讯作者] *王素军,副教授,硕士生导师,从事中药药理与药动学研究,Tel:020-39352561,E-mail:guangdongyao11@163.com

[参考文献]

[1] Taguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, et al. Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume [J]. Chem Pharm Bull, 1981, 29(1):55.
[2] Tang W, Eisenbrand G. Chinese drugs of plant origin [J]. Berlin: Springer-Verlag, 1992:545.
[3] Junko H, Toshikazu S, Shigeyoshi D, et al. Phenolic compounds from *Gastrodia* Rhizome and relaxant effects of related compounds on isolated smooth muscle preparation [J]. Phytochemistry, 2002, 59(5):513.
[4] 陈奇. 中药药理实验方法 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1994:207.

[5] 程刚, 郝秀华, 刘国良, 等. 天麻素在大鼠体内的药动学研究 [J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(2):128.
[6] 王兴, 胡瑞娟, 黄熙, 等. RP-HPLC 测定大鼠服用大川芎丸提取物后血浆中的天麻素 [J]. 华西药理学杂志, 2003, 18(5):341.
[7] 郭正平, 谭天秩, 钟裕国, 等. 天麻素及天麻甙元作用机理的研究 [J]. 华西医科大学学报, 1991, 22(1):79.
[8] 邢玉瑞. 中医基础理论 [M]. 西安:陕西科技出版社, 2005:86.
[9] 穆朝娟, 张涛. 天麻素对戊四氮致痫大鼠脑内血管的保护作用 [J]. 实用医学杂志, 2009, 25(14):2226.

[责任编辑 刘德文]

concentration. The P_{eff} in the ileum obviously higher than that in the duodenum, jejunum and colon, namely the ileum was the best absorption section. **Conclusion:** The absorption of isochlorogenic acid A was not saturated in high concentration, indicating that the transport mechanisms of isochlorogenic acid A was passive diffusion, and had a special absorption window.

[**Key words**] isochlorogenic acid A; single-pass intestinal perfusion model; absorption

异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 为 3,5-二咖啡酰奎宁酸,属咖啡酰奎尼酸类中二咖啡酰奎尼酸类(dicaffeoylquinic acids, DCQAs)。咖啡酰奎尼酸类化合物是由奎尼酸和不同数目的咖啡酸酯化形成的一类天然化合物。二咖啡酰奎尼酸类在植物界分布较广^[1]。现代药理学研究表明,二咖啡酰奎尼酸类具有广泛的药理作用,如抗氧化、抗炎、抗微生物等^[2-4],但二咖啡酰奎尼酸类化合物受到关注主要是因为其具有抗乙型肝炎病毒(HBV)活性、保肝作用^[5]。乙型肝炎病毒感染引起肝炎始终是威胁着人类健康的全球性问题,在我国,HBV 感染者和携带者高达 1.2 亿人,其中慢性乙型肝炎患者约有 3 000 万。最新研究证明异绿原酸 A 具有抑制乙型肝炎病毒复制,抗乙型肝炎病毒的活性,且其体外抗乙型肝炎病毒的活性较水飞蓟素和苦参碱强^[6]。药效学实验结果表明,天然的 3,5-二咖啡酰奎尼酸毒性非常低,有望开发成为新型的抗 HBV 药物。

早期已有学者通过体外 Caco-2 和 MDCK 细胞模型预测被测药物人体生物利用度。尽管体外模型研究影响较少,但却较体内模型失真,获得的数据可能误差较大。本实验建立在体单向肠灌注模型,研究异绿原酸 A 在大鼠肠的吸收特性。

1 材料

1.1 药品与仪器 异绿原酸 A(批号 12022803,含量 >98%,四川成都普瑞法科技开发有限公司),酚红(天津市光复精细化工研究所),甲醇(美国 Hyclone 公司),其他试剂均为分析纯。LC-100 高效液相色谱仪(上海伍丰公司),飞鸽高速离心机(上海安亭科学仪器厂),HL-2 蠕动泵(上海精科实业有限公司)。

1.2 K-R 溶液的配制 用蒸馏水配制 K-R 液,使其 1 L 含 NaCl 7.80 g, KCl 0.35 g, CaCl₂ 0.37 g, NaHCO₃ 1.37 g, NaH₂PO₄ 0.22 g, MgCl₂ 0.22 g, 葡萄糖 3.00 g, pH 7.4。其中 CaCl₂ 单独溶解后逐滴加入,葡萄糖临用加入。

1.3 动物 SPF 级 SD 大鼠,200 ~ 250 g,雌雄各半,购于广州中医药大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(粤)2008-0020。

2 方法

2.1 色谱条件 Shodex C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 30 ℃;检测波长 300 nm;流动相为甲醇-0.1% 磷酸水(50:50),流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。

2.2 样品预处理 取样品 200 μL,14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 水相针式微孔滤器滤过,取续滤液 20 μL 进样分析。

2.3 标准曲线的制备 分别精密称取异绿原酸 A 和酚红对照品适量,分别用 DMSO 溶解制备质量浓度均为 1 g·L⁻¹ 的贮备液。移取异绿原酸 A、酚红贮备液适量,制得异绿原酸 A 与酚红的混合对照品溶液。用空白 K-R 液稀释最终配得异绿原酸 A 和酚红的质量浓度分别为 3.44, 6.88, 13.75, 27.50, 55.00, 110.00 mg·L⁻¹; 5.27, 10.53, 21.06, 28.86, 42.12, 57.75, 84.25, 168.50, 337.00, 676.80 mg·L⁻¹,按 2.2 项下操作,进样分析。分别以异绿原酸 A 与酚红的峰面积为纵坐标,各以其质量浓度为横坐标,进行线性回归。

2.4 专属性 比较空白 K-R 液,异绿原酸 A 与酚红的对照品及样品(取十二指肠 15 min 样品)中异绿原酸 A 的色谱行为,判断异绿原酸 A 相应峰位是否存在内源性干扰。

2.5 精密度 精密量取异绿原酸 A 对照品贮备液适量,用空白 K-R 液稀释为 6.88, 27.50, 55.00 mg·L⁻¹ 各 5 份,于同 1 d 内测定 5 次和 5 d 内分别测定,按 2.2 项操作,计算日内和日间精密度。

2.6 稳定性 精密量取异绿原酸 A 对照品贮备液适量,空白 K-R 液配制为 6.88, 27.50, 55.00 mg·L⁻¹ 的质控样品各 5 份,分别置于常温与 37 ℃ 水浴中,均于 0, 2, 4, 8, 12 h 进样检测,考察样品稳定性。

2.7 提取回收率 精密量取异绿原酸 A 对照品贮备液适量,空白 K-R 液配制为 6.88, 27.50, 55.00 mg·L⁻¹ 的质控样品各 5 份,按 2.2 项下操作后进样,记录异绿原酸 A 峰面积,与相应浓度对照品甲醇溶液峰面积比较,计算提取回收率。

2.8 大鼠在体肠吸收研究

2.8.1 单向肠灌注模型 取含异绿原酸 A 的灌注液、空白灌注液置 37 °C 恒温水浴,将禁食过夜的大鼠(不禁水) ip 20% 乌拉坦溶液(0.06 mL·g⁻¹)麻醉。背位固定大鼠,沿腹中线打开腹腔,小心分离出待考察肠段,即十二指肠为距幽门 1 cm 处开始,空肠段为距幽门 15 cm 处开始,回肠段为盲肠上 20 cm 处开始,结肠段为紧邻盲肠处开始向下取,各量取 10 cm 待测肠段于两端切口,插管并结扎。蠕动泵以 1.0 mL·min⁻¹ 的流速将空白灌注液灌入各段肠段冲洗干净肠内容物,再以 0.2 mL·min⁻¹ 的流速灌注含酚红的药液平衡 10 min 后,开始计时。入口处用已知浓度的药液灌注,每隔 15 min 收集 1 次出口液,直至 90 min,实验结束后剪取各个被灌注的肠段,测量肠内径以及长度。

2.8.2 物理吸附考察 分别取大鼠各肠段和灌注管孵育异绿原酸 A 灌注液 4 h,比较孵育前后灌注液中异绿原酸 A 前后的浓度变化,计算孵育 4 h 后异绿原酸 A 的剩余率。

2.8.3 异绿原酸 A 不同浓度对肠吸收的影响 不同质量浓度(18, 58, 100 mg·L⁻¹)的异绿原酸 A 在大鼠各肠段的吸收参数,经软件 SPSS 17.0 统计分析结果。

2.8.4 异绿原酸 A 同一质量浓度对肠吸收的影响 分别考察异绿原酸 A 同一质量浓度(18, 58, 100 mg·L⁻¹)条件下,在大鼠各肠段的吸收参数的差异性。

2.8.5 数据处理 本文采用酚红法对灌注液的流入和流出的体积进行校正,消除其体积变化的影响。在体大鼠单向肠灌注实验中所测得的出口处的异绿原酸 A 的浓度用公式(1)校正:

$$C_{\text{out(corrected)}} = \frac{C_{\text{out}} \times PR_{\text{in}}}{PR_{\text{out}}} \quad (1)$$

异绿原酸 A 在肠道的吸收系数(F_a)及有效渗透系数(P_{eff})用公式(2)和(3)计算:

$$F_a = 1 - \frac{C_{\text{out(corrected)}}}{C_{\text{in}}} \quad (2)$$

$$P_{\text{eff}} = \frac{Q \times \ln \frac{C_{\text{in}}}{C_{\text{out(corrected)}}}}{2\pi rL} \quad (3)$$

单向灌注时,各肠道不仅吸收药物,而且还吸收或分泌水分,因此,稳态时净水流量(NWF, $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)的计算公式如下:

$$\text{NWF} = \frac{(1 - PR_{\text{out}}/PR_{\text{in}})Q}{L} \quad (4)$$

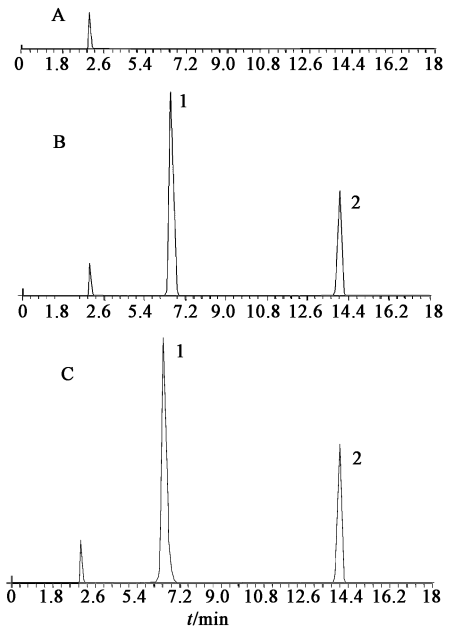
式中 $C_{\text{out(corrected)}}$ 和 C_{out} 分别为出口处经校正后

的异绿原酸 A 和实际测得的异绿原酸 A 的浓度; C_{in} 为灌注液中异绿原酸 A 的浓度; $PR_{\text{in}}, PR_{\text{out}}$ 分别为入口处和出口处酚红的浓度; F_a 与 P_{eff} 为异绿原酸 A 在肠道的吸收分数与有效渗透系数。 Q 为肠道灌注液的流速(0.2 mL·min⁻¹); L 和 r 分别为被灌注肠段的长度和内径(cm)。NWF 值为正数值时,表示肠道分泌水分;负数值时,表示肠道吸收水分。

利用统计分析软件 SPSS 17.0 处理数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,当 $P < 0.05$ 时判定具有显著性差异。

3 结果

3.1 方法专属性 图 1 分别为空白 K-R 灌注液、空白 K-R 灌注液中加入异绿原酸 A 对照品及酚红和空肠 30 min 样品典型色谱图。异绿原酸 A 和酚红的保留时间分别为 6.7 min 和 14.4 min。K-R 灌注液内源物质与其他杂质不干扰异绿原酸 A 的分离测定。



A. 空白 K-R 液; B. 异绿原酸 A 对照品(27.50 mg·L⁻¹)与酚红;
C. 异绿原酸 A 空肠 30 min 肠灌注样品; 1. 异绿原酸 A; 2. 酚红

图 1 异绿原酸 A HPLC

3.2 标准曲线 用对照品异绿原酸 A 峰面积与对照品浓度作线性回归,得回归方程 $Y = 65.57X - 144.1$ ($R^2 = 0.998$),用对照品酚红峰面积与对照品浓度作线性回归,得回归方程 $Y = 17.23X - 38.02$ ($R^2 = 0.999$)。

3.3 精密性、稳定性与提取回收率 低、中、高异绿原酸 A 质控样品(6.88, 27.50, 55.00 mg·L⁻¹)的日内、日间精密性 RSD 均 < 6%。异绿原酸 A 在常温与在水浴 37 °C 条件下,12 h 内稳定性良好, RSD

均 < 8%。提取回收率为 $(93.67 \pm 0.46)\%$, 每个回收率 RSD 均符合要求。

3.4 单向肠灌注

3.4.1 物理吸附考察 18, 58, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的异绿原酸 A 灌流液在各肠段与灌流管孵育 4 h 后异绿原酸 A 的剩余率见表 1, 结果表明大鼠肠壁和灌流管对异绿原酸 A 基本无物理吸附作用。

3.4.2 异绿原酸 A 不同质量浓度对肠吸收的影响

表 1 异绿原酸 A 在各肠段与灌流管孵育 4 h 后的剩余率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	剩余率/%				
	十二指肠段	空肠段	回肠段	结肠段	灌流管
18	93.65 ± 1.32	$94.31 \pm 0.87^{1)}$	$94.78 \pm 1.83^{1)}$	$93.80 \pm 1.58^{1)}$	96.50 ± 1.02
58	93.60 ± 2.12	90.64 ± 3.82	91.74 ± 1.80	90.31 ± 3.60	97.49 ± 0.32
100	92.59 ± 0.60	92.08 ± 0.59	92.23 ± 2.04	91.41 ± 0.46	96.02 ± 2.46

注:与 58 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 质量浓度相比¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.4.3 异绿原酸 A 同一质量浓度对肠吸收的影响 结果显示同一浓度异绿原酸 A 在十二指肠段、空肠段、回肠段及结肠段的有效渗透系数均存在显著

不同质量浓度 (18, 58, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的异绿原酸 A 在大鼠各肠段的吸收参数见表 2。结果显示不同浓度异绿原酸 A 在十二指肠段、空肠段、回肠段及结肠段的吸收参数存在显著性差异。随着浓度的增加, 同一肠段的 P_{eff} 增大, 高浓度无饱和现象, 表明异绿原酸 A 在小肠内吸收无自身浓度抑制作用, 异绿原酸 A 可能以被动扩散的机制吸收进入体循环。不同浓度的异绿原酸 A 在各肠段的吸收系数 F_a 见表 2。

性差异 ($P < 0.05$), 表明异绿原酸 A 在小肠有特殊的吸收窗, 在回肠段吸收最好, 吸收大小顺序依次是回肠 > 空肠 > 十二指肠 > 结肠。见表 2。

表 2 不同浓度异绿原酸 A 的吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	系数	十二指肠	空肠	回肠	结肠
18	$F_a/\%$	$5.11 \pm 0.09^{1)}$	$7.62 \pm 0.79^{1)}$	9.90 ± 1.70	$3.37 \pm 0.46^{1)}$
	$P_{\text{eff}} \times 10^{-5}/\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$	$1.09 \pm 0.01^{1)}$	1.35 ± 0.14	1.38 ± 0.24	$0.69 \pm 0.09^{1)}$
58	$F_a/\%$	$7.77 \pm 0.53^{1)}$	$11.29 \pm 1.24^{1)}$	18.32 ± 5.09	$2.72 \pm 0.76^{1)}$
	$P_{\text{eff}} \times 10^{-5}/\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$	$1.53 \pm 0.45^{1)}$	$2.9 \pm 0.34^{1)}$	5.22 ± 1.60	$1.32 \pm 0.13^{1)}$
100	$F_a/\%$	$7.22 \pm 0.53^{1)}$	$11.53 \pm 0.19^{1)}$	20.06 ± 3.06	$5.87 \pm 0.32^{1)}$
	$P_{\text{eff}} \times 10^{-5}/\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$	$2.08 \pm 0.15^{1)}$	$3.4 \pm 0.08^{1)}$	6.64 ± 1.16	$1.68 \pm 0.09^{1)}$

注:与回肠段比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.4.4 稳态时净水流量 单向肠灌注时肠对水分的吸收或分泌情况见表 3, 结果显示在灌注过程中

肠道处于分泌水份的状态。

表 3 异绿原酸 A 单向肠灌注稳态时净水流量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	NWF/ $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$			
	十二指肠段	空肠段	回肠段	结肠段
18	1.80 ± 0.69	2.77 ± 1.66	1.63 ± 0.66	1.00 ± 0.65
58	1.40 ± 0.70	2.17 ± 0.76	2.97 ± 0.25	3.80 ± 1.31
100	5.10 ± 1.22	2.77 ± 0.32	2.77 ± 0.45	3.33 ± 0.71

4 讨论

在体肠灌注模型已广泛用于研究药物肠吸收特征, Salphati 等^[7] 建立单向肠灌注模型研究 14 种化合物在大鼠肠的有效渗透系数, 并将药物在大鼠肠道的有效渗透系数与药物在人体肠道的有效渗透吸收相比较, 相关性为 $r^2 = 0.88$; 另外, 用斯皮尔曼秩

相关系数法计算通过单向肠灌注法获得的药物在大鼠肠道的有效渗透系数与药物在人体的吸收率的相关性, 结果显示相关性 $r_s = 0.92$; 同样, 用斯皮尔曼秩相关系数法计算通过用体外 Caco-2 细胞模型与 MDCK 细胞模型获得的药物有效渗透系数与人体的吸收率的相关性 r_s 分别为 0.61, 0.59, 结果表明, 在

体单向肠灌注法研究药物在肠道的吸收特性较体外模型结果更可靠,接近体内真实情况。

本实验采用低流速($0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)同时灌注大鼠的十二指肠段、空肠段、回肠段与结肠段,不但减小了流速对肠壁的损伤,而且还符合药物在人体肠道蠕动的情况,获得的数据可以与药物在人体肠道吸收有较好的相关性。在体肠灌注法有单向灌注与循环灌注法,实验中,肠道对水分的吸收或分泌往往会导致灌流液体积的变化,因此需要选用不被肠道吸收的物质作为灌流液体积的“标示物”,用于校正灌流液的体积变化。选用较多的药物是酚红与 ^{14}C -PEG。有学者指出^[8],在体肠循环灌注法实验中长时间循环灌注会致使酚红在肠道中被吸收,导致实验结果误差大。因此文中采用单向灌注在K-R灌流液中加入不被肠道吸收的酚红来标示灌流液体积的变化,并通过计算肠道稳态是净水流量(NWF)反映肠道对水分的吸收或分泌作用,结果可看出,在单向灌注时,肠道主要向肠道分泌水分,导致灌流液体积的变化已由酚红校正了,灌流管道对药物的物理吸附基本上可认为是无吸附,排除各种影响实验的因素,保证了实验获得的数据可靠性。

有文献报道药物在大鼠空肠的 $P_{\text{eff}} > 3 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 为高渗透性药物,吸收好;如果药物的 $P_{\text{eff}} < 2 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 为低渗透性药物^[9]。有研究证实,当异绿原酸A的质量浓度为 $10, 50, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时基本无毒性^[10]。因此,本实验考察了异绿原酸A低、中、高3个质量浓度在大鼠空肠段的 P_{eff} 分别为 $(1.35 \pm 0.14) \times 10^{-5}$, $(2.96 \pm 0.34) \times 10^{-5}$, $(3.42 \pm 0.08) \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$,中浓度时,异绿原酸A的 $2 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1} < P_{\text{eff}} < 3 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$,认为异绿原酸A属于中等渗透性药物。

有学者^[11]提出当药物以被动转运方式吸收时,运用药物在大鼠空肠段的 $P_{\text{eff rat}}$ 可以预测药物在人体空肠段的 $P_{\text{eff human}}$ 和吸收分数 $F_{\text{a human}}$ 异绿原酸A中、高浓度在空肠段的平均有效渗透系数 P_{eff} 为 $3.19 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$,则 $P_{\text{eff human}} = 1.18 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, $F_{\text{a human}} = 40.55\%$,属于中等吸收范围。

本实验结果显示,同一肠段的条件下,随着异绿原酸A浓度的增大, P_{eff} 增大,表明异绿原酸A在高浓度时吸收无饱和性,以被动转运方式吸收。在同一浓度条件下,在十二指肠、空肠、回肠及结肠段中,以回肠段吸收最好,吸收大小依次是回肠 > 空肠 > 十二指肠 > 结肠。因此,异绿原酸A在小肠段吸收

较好,符合弱酸性异绿原酸A在肠道的吸收特性。

[参考文献]

- [1] Wang S Y, Chang H N, Lin K T, et al. Antioxidant properties and phytochemical characteristics of extracts from *Lactuca indica* [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51 (5):1506.
- [2] Konczol A, Beni Z, Sipos M M, et al. Antioxidant activity-guided phytochemical investigation of *Artemisia gmelinii* Webb. ex Stechm. : isolation and spectroscopic challenges of 3,5-*O*-dicaffeoyl quinic acid and its ethyl ester [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59:83.
- [3] Park K H, Park M, Choi S E, et al. The anti-oxidative and anti-inflammatory effects of caffeoyl derivatives from the roots of *Aconitum koreanum* R. Raymond [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(12):2029.
- [4] Fiamegos Y C, Kastritis P L, Exarchou V, et al. Antimicrobial and efflux pump inhibitory activity of caffeoylquinic acids from *Artemisia absinthium* against gram-positive pathogenic bacteria [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4):e18127.
- [5] Wu H Y, Hao B J, Cao H C, et al. anti-hepatitis B virus effect and possible mechanism of action of 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid *in vitro* and *in vivo* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 50(4):612.
- [6] Hao B J, Wu H Y, Wang J G, et al. Hepatoprotective and antiviral properties of isochlorogenic acid A from *Laggera alata* against hepatitis B virus infection [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 144:190.
- [7] Salphati L, Childers K, Pan L, et al. Evaluation of a single-pass intestinal-perfusion method in rat for the prediction of absorption in man [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53 (7):1007.
- [8] 胡一桥, 郑梁元, 钱陈钦, 等. 离子型药物酚红的小肠吸收研究 [J]. *中国药科大学学报*, 1996, 27 (6):355.
- [9] Parvin Z M, Mohammad B J, Hosniyeh T, et al. Simultaneous determination of naproxen, ketoprofen and phenol red in samples from rat intestinal permeability studies; HPLC method development and validation [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 39 (3/4):624.
- [10] Wu Y H, Hao B J, Shen E, et al. Protective properties of *laggera alata* extract and its principle components against *D*-galactosamine-injured hepatocytes [J]. *Sci Pharm*, 2012, 80(2):447.
- [11] Urban F, Monica J, Hans L. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum [J]. *Pharm Res*, 1996, 13 (9):1336.

[责任编辑 聂淑琴]