论著

文章编号:1000-5404(2009)10-0926-05

盐酸氯丙嗪促进药物直肠吸收机制研究

杨 丹,王章阳,陈勇川,陈剑鸿,戴 青,刘松青,夏培元 (第三军医大学西南医院药学部,重庆 400038)

摘 要:目的 应用Caco-2细胞(the human colon adenocarcinoma cell lines)考察盐酸氯丙嗪对直肠黏膜上皮细胞完整性与稳定性的影响。**方法** 以不同浓度的盐酸氯丙嗪作用Caco-2细胞后,采用Bradford法测定上清液吸光度值[$D(595)$],计算细胞膜破坏百分率以了解Caco-2细胞膜完整性的变化;应用DPH(1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene)荧光探针法测定细胞膜脂质DPH的荧光强度并计算荧光偏振度,评价细胞膜流动性的变化,以了解其对Caco-2细胞膜稳定性的影响。**结果** 盐酸氯丙嗪浓度>140 μmol/L时能影响Caco-2细胞膜完整结构,使细胞内容物释出,且浓度与对膜破坏程度呈现S型曲线。盐酸氯丙嗪浓度<112 μmol/L时Caco-2细胞膜脂质荧光偏振度值随浓度的增高及作用时间的延长,呈逐渐下降的趋势($P<0.05$)。**结论** 盐酸氯丙嗪在低浓度时能够增大Caco-2细胞膜的流动性,使其结构紊乱,影响膜的稳定性;当超过一定浓度时可破坏细胞膜的完整性,使细胞内容物释出;这些改变很可能是盐酸氯丙嗪促进药物跨膜转运吸收的机制之一。

关键词: 盐酸氯丙嗪;直肠吸收;细胞膜;机制

中图法分类号: R322.45;R963;R971.4 **文献标识码:** A

In vitro mechanisms of drug absorption in rectum promoted by chlorpromazine hydrochloride

YANG Dan, WANG Zhang-yang, CHEN Yong-chuan, CHEN Jian-hong, DAI Qing, LIU Song-qing, XIA Pei-yuan
(Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective It was demonstrated from our previous studies that chlorpromazine hydrochloride can increase the relative bioavailabilities of drugs through rectal administration, due to the alternations of cell membrane architecture and permeability caused by the amphipathic structure of chlorpromazine hydrochloride. To prove this mechanism, Caco-2 cell membrane was exploited to investigate the effect of chlorpromazine hydrochloride on the membrance's integrities and stabilities. **Methods** After the Caco-2 cells were treated with chlorpromazine hydrochloride at different concentrations for different durations, the optical density value (OD-value) of the supernatant was determined by Bradford protein assays. The calculated OD ratios showed the changes of Caco-2 cell membrane integrity. The fluorescent intensity (fluorescence polarization, Pr) was determined by fluorescence spectrophotometer with 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH) as a fluorescein probe, the mobility and stability of Caco-2 cell membrane were evaluated by the calculated Pr's data. **Results** Compared with the control, Caco-2 cell membrane was damaged at different degrees by high-dose chlorpromazine hydrochloride (>140 μmol/L), and the intracellular content was poured out. It was observed an S-shape curve between the membrane-damaged percentage *vs* the concentrations of chlorpromazine hydrochloride. Meanwhile, degression of the fluorescence polarization (Pr) of Caco-2 cell membrane was observed after the Caco-2 cells treated with low-dose chlorpromazine hydrochloride, and Pr values were decreased with the increase of concentration of chlorpromazine hydrochloride and extension of treatment time ($P<0.05$). A significant negative correlation was found between Pr value and duration at the same concentration group ($P<0.05$). **Conclusion** Low

作者简介:杨 丹,女,四川省峨眉山市人,硕士研究生,主要从事药物直肠给药剂型方面的研究。电话:(023)68765991,E-mail:joydan616@163.com
通信作者:王章阳,电话:(023)68754462,E-mail:cgwangzy@163.com
收稿日期:2009-01-09;修回日期:2009-02-22

dose chlorpromazine hydrochloride increases lipid fluidity and changes the stability of Caco-2 cell membrane, and even damages cell membrane integrity when the concentration is increased or treatment time prolonged, resulting in the increase of cell membrane permeability. The changes of cell membrane may be one of mechanisms for promoting the rectal absorption of drugs by chlorpromazine hydrochloride.

Key words: chlorpromazine hydrochloride; rectal absorption mechanism; Caco-2 cell membrane

盐酸氯丙嗪为吩噻嗪类抗精神病药。有学者报道,此类结构药物能够提高硫酸庆大霉素、头孢甲氧霉素钠及头孢噻吩钠等药物的直肠吸收相对生物利用度[1]。本课题组在前期研究中观察到盐酸氯丙嗪能够较大程度地提高安乃近经兔直肠吸收的速度与程度[2]。然而此类吩噻嗪药物促进药物直肠吸收的作用机制尚少有研究报道。众所周知,肠道黏膜上皮细胞的完整性或细胞膜的稳定性与药物转运吸收密切相关,且随完整性或稳定性的降低药物吸收增加。由于盐酸氯丙嗪具有亲水亲脂的两亲性特征[1],因此容易渗入细胞膜,影响细胞膜的稳定性或完整性。细胞膜流动性是其稳定性状态最主要的表现形式,而膜的完整性又是细胞进行正常生理功能的基本结构要求,本研究利用人肠黏膜上皮 Caco-2 细胞(the human colon adenocarcinoma cell lines),考察不同浓度盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜的影响,以此了解盐酸氯丙嗪促进药物直肠吸收的可能机制,为该类结构化合物作为药物直肠吸收促进剂的应用提供参考。

1　材料与方法

1.1　药品、试剂与细胞株

盐酸氯丙嗪(纯度≥99.56%,批号:070801,东港市宏达制药有限公司),四甲基偶氮唑盐(diphenyltet razolium bromide, MTT, Sigma 公司),荧光探针 DPH(1, 6-dipheny-1, 3, 5-hexatriene,Fluka 公司),考马斯亮蓝 G-250(Sigma 公司),DMEM 培养基(dulbecco's modified eagle's medium, Gibco 公司),胎牛血清(fetal bovine serum, Gibco 公司),0.25% 胰蛋白酶-0.02% EDTA 消化液(HyClone 公司),生理盐水(批号:080912,重庆天圣制药有限公司)、灭菌注射用水(批号:081030301,四川美大康佳乐药业有限公司),Hanks 液、PBS 液均按标准配制(pH7.4),二甲基亚砜(DMSO,Sigma 公司),水经 Milli-Q 超纯水系统(Millipore 公司)处理,其他试剂均为分析纯。Caco-2 (the human colon carcinoma cell line,编号 TRL1-TCHu8)细胞株,购自中国科学院上海细胞库。

1.2　仪器

F-3010 型荧光分光光度计(Hitachi 公司),DU 640 型紫外可见分光光度仪(Beckman 公司),Model 680 型酶标仪(Bio-Rad 公司),Z series 细胞计数仪(Beckman 公司),S3400N 型扫描电镜(Hitachi 公司),电热恒温水浴(北京长风仪器仪表厂),Allegra X-12R 型台式低温细胞离心机(Beckman 公司),Olympus 倒置显微镜(Olympus 公司),Thermo Forma CO_2 细胞培养箱(Forma 公司)。

1.3　方法

1.3.1　细胞培养　　Caco-2 细胞的传代数为 10 ~ 40 代以内。将细胞接种于培养瓶,培养液为含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基,置于 37 ℃、5% CO_2 孵箱中培养。5 ~ 7 d 后,倒置显微镜下观察到细胞完全融合,连接紧密时即可。

1.3.2　盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜完整性的影响

1.3.2.1　考马斯亮蓝 G-250 染液的配制　　称取考马斯亮蓝 G-250 100 mg 溶于 50 ml 95% 乙醇中,加入 100 ml 85% 磷酸,加蒸馏水稀释至 1 000 ml,Whatman 1 号滤纸过滤,置棕色瓶内室温保存,待用。

1.3.2.2　盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞的处理　　在 Caco-2 细胞长至紧密融合后,弃去旧培养液,PBS 液冲洗细胞 2 次,用胰酶于室温条件下消化细胞,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,进行细胞计数,生理盐水将细胞稀释为终密度 1×10^6 ml^{-1} 的细胞悬液。分为实验组与阳性对照组,取细胞悬液 100 μl,实验组加入盐酸氯丙嗪液(生理盐水配制,DMSO 浓度 < 0.1%)至 1.0 ml,使其终浓度为 70、112、140、280、420、560、1 120、1 680 μmol/L,阳性对照组加入灭菌注射用水至 1.0 ml,37 ℃避光孵育 2 h 后,3 000 r/min 离心 10 min,小心吸取上清液 0.9 ml 至另一 EP 管内,3 000 r/min 离心 5 min,吸取上清液,待测。

1.3.2.3　Bradford 法测定上清液吸光度值　　对含盐酸氯丙嗪的上清液与未含盐酸氯丙嗪的上清液在 400 ~ 800 nm 范围内进行扫描,显示盐酸氯丙嗪对 Bradford 法的测定波长 595 nm 处的吸光度无影响。

取各样品上清液 100 μl,加入 900 μl 考马斯亮蓝 G-250 染液,振荡混匀后,在 5 ~ 10 min 内应用紫外可见分光光度仪于 595 nm 处测定其吸光度值[$D(595)$],计算平均 $D(595)$。空白对照以等体积灭菌注射用水代替样品液,加入 900 μl 考马斯亮蓝 G-250 染液后同法测定。计算 Caco-2 细胞破坏程度:

细胞破坏程度 = 实验组平均 $D(595)$/阳性对照组平均 $D(595) \times 100\%$

1.3.2.4　形态学观察　　按 1.3.2.2 项给药处理后的 Caco-2 细胞用 PBS 清洗 3 次,10 min/次,2.5% 戊二醛固定,0.1 mol/L PBS 清洗 2 次,10 min/次,经乙醇梯度脱水,叔丁醇置换干燥后离子溅射镀膜,用日立 S3400N 型扫描电镜观察。

1.3.3　盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜流动性的影响

1.3.3.1　细胞毒性实验　　将 Caco-2 细胞接种于 96 孔培养板中,接种密度为 5×10^4 ml^{-1},每孔终体积 200 μl,置于 37 ℃、5% CO_2 孵箱中培养 48 h 后,小心吸尽每孔培养液。分组为实验孔和空白对照孔,实验孔加入 100 μl 不同浓度盐酸氯丙嗪溶液(Hanks 液配置,DMSO 浓度 < 0.1%),使终浓度分别为 2.8、14、28、70、140、280、560 μmol/L, 空白对照组加入同体积空白

Hanks 液，每组设 6 个平行孔。培养 3 h 后，每孔加入 5.0 mg/ml MTT 液 20 μl，37 ℃继续孵育 4 h，小心吸弃上清液，每孔加入 DMSO 150 μl，振荡 10 min，使蓝色结晶物充分溶解，用酶标仪在波长 490nm 处读取吸光度值[$D(490)$]，计算平均 $D(490)$。按下式计算细胞存活率(IC)。

IC = 实验孔平均 $D(490)$/对照孔平均$D(490)$ ×100%

以 90% 的细胞存活率所对应的浓度作为细胞对盐酸氯丙嗪的敏感浓度，膜流动性实验选择低于此剂量的浓度。

1.3.3.2 DPH(1,6-dipheny-1,3,5-hexatriene)分子荧光探针制备 取 2.32 mg DPH，加入 5 ml 四氢呋喃振荡混匀，制得浓度为 2 mmol/L 的母液，置于棕色瓶中 4 ℃冰箱避光保存待用。临用前，以 PBS 液(pH 7.4)稀释至 1/1 000，使 DPH 标记液浓度为 2 μmol/L，强力振摇 5 ~ 10 min，待用。

1.3.3.3 细胞标记及处理 Caco-2 细胞长至紧密融合后，用 Hanks 液冲洗 2 次，洗去杂质，实验组加入盐酸氯丙嗪溶液(Hanks 液配置，DMSO 浓度 <0.1%)并使培养液终浓度分别为 28、56、112 μmol/L，对照组给予相同体积空白 Hanks 液，分别作用 15、30、60、120 min 后，弃上清培养液，以 PBS 液冲洗细胞 2 ~ 3 次，用胰酶于室温条件下消化细胞，1 000 r/min 离心5 min，弃上清液，作细胞计数，用 PBS 液稀释为密度 2×10^5 ml^{-1} 的细胞悬液。取细胞悬液 2.0 ml，加入 2.0 ml DPH 标记液，混匀后于 37 ℃水浴避光孵育，30 min 后，3 000 r/min 离心 10 min，弃去残留 DPH 标记液，用 PBS 液冲洗细胞 2 次，最后加入 4 ml PBS 液重新混悬细胞，以日立 F-3010 型荧光分光光度计测定荧光强度，λ_{EX} = 362 nm，λ_{EM} = 432 nm，并计算荧光偏振度值(Pr)。

1.3.3.4 荧光偏振度计算公式

$$Pr = (I_{0,0} - G \times I_{0,90}) / (I_{0,0} + G \times I_{0,90})$$

$$G = I_{90,0}/I_{90,90}$$

其中，Pr 是荧光偏振度；G 是校正因子；Pr 值反应了细胞膜流动性的变化，Pr 值降低提示细胞膜流动性增大，反之亦然。

$I_{0,0}$指起偏器与检偏器相互平行时的荧光强度；$I_{90,90}$指起偏器与检偏器相互垂直时的荧光强度；$I_{90,0}$指起偏器为垂直方向，检偏器为水平方向的荧光强度；$I_{0,90}$指起偏器为水平方向，检偏器为垂直方向时的荧光强度。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 11.0 统计软件行单因素方差分析和 Pearson 积矩相关分析。

2 结果

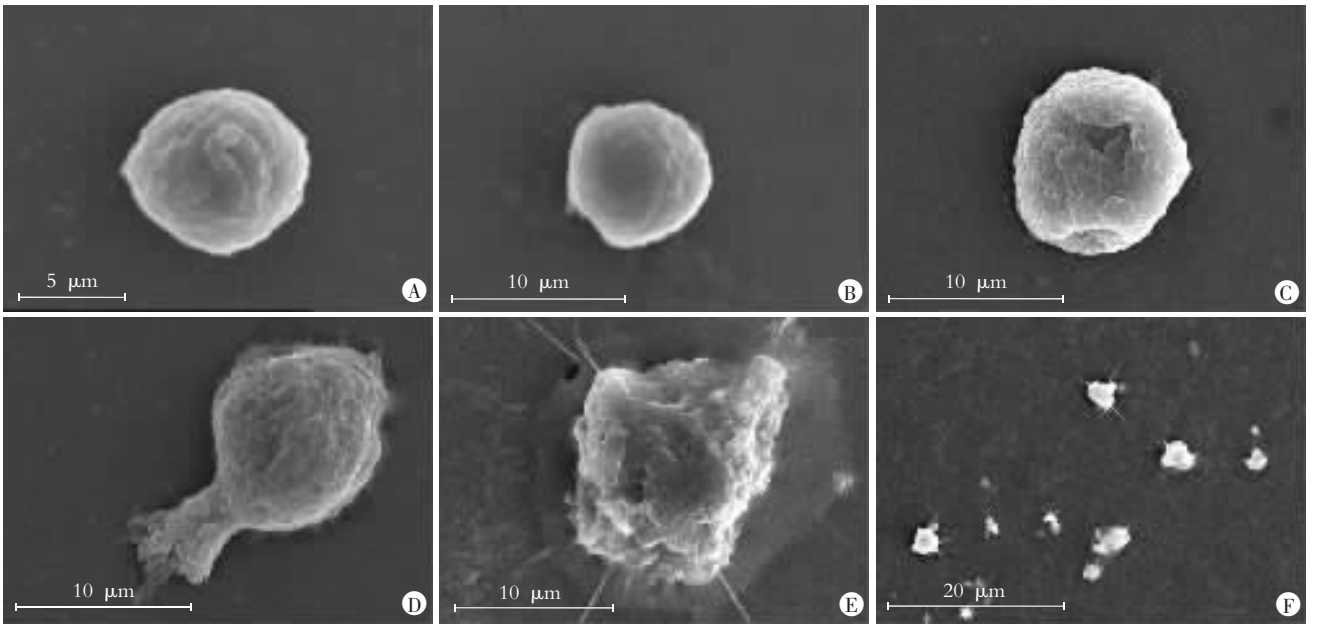
2.1 盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜完整性的影响

不同浓度的盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜完整性影响见表 1，图 1。盐酸氯丙嗪浓度与细胞破坏百分率呈现 S 型曲线关系，随盐酸氯丙嗪浓度的增加，细胞破坏百分率逐渐增高，至 140 μmol/L 起急剧增加，当浓度为 1 120 μmol/L 时细胞破坏百分率达到峰值，之后曲线趋于平稳，继续增大盐酸氯丙嗪浓度对 Caco-2 细胞膜破坏百分率增长的影响不明显。图 1 显示未经盐酸氯丙嗪处理的 Caco-2 细胞呈现正常圆球状且结构完整，外层细胞膜清晰平整；增大盐酸氯丙嗪浓度，细胞膜出现突起或局部破裂。

表 1 各浓度盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜完整性的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

盐酸氯丙嗪浓度(μmol/L)	$D(595)$	细胞破坏程度(%)
70	0.049 0 ± 0.007 7[a]	6.78
112	0.083 0 ± 0.004 2[a]	11.49
140	0.105 8 ± 0.006 6[a]	14.65
280	0.234 0 ± 0.017 4[a]	32.40
420	0.376 5 ± 0.009 1[a]	52.11
560	0.502 7 ± 0.009 6[a]	69.59
1 120	0.563 6 ± 0.021 2[a]	78.02
1 680	0.575 3 ± 0.025 7[a]	79.07
阳性对照组	0.722 4 ± 0.015 8	100.00

a：$P < 0.05$，与阳性对照组比较

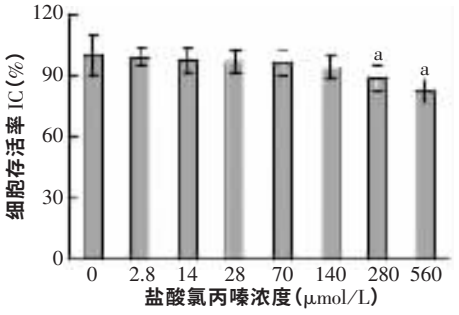


A：空白对照组；B：140 μmol/L 组；C：280 μmol/L 组；D：1 120 μmol/L 组；E：阳性对照组膜皱缩细胞；F：阳性对照组细胞破裂碎片

图 1 各浓度盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜完整性的影响 (TEM)

2.2　盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜流动性的影响

2.2.1　Caco-2 细胞毒性实验　　结果表明,盐酸氯丙嗪在低于 140 μmol/L 时为细胞非毒性浓度,于细胞培养 3 h 后细胞存活率 >90%,见图 2。故选取盐酸氯丙嗪的低、中、高浓度(28、56、112 μmol/L)进行细胞膜流动性的研究。



a: $P<0.05$,与阳性对照组(0 μmol/L)比较

图 2　盐酸氯丙嗪浓度对 Caco-2 细胞存活率的影响

($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

2.2.2　盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜流动性的影响　　各浓度盐酸氯丙嗪与 Caco-2 细胞膜脂质荧光偏振度 Pr 值的测定结果见表 2。与空白对照组比较,盐酸氯丙嗪与 Caco-2 细胞作用 15 min后,膜脂质荧光偏振度 Pr 值迅速降低,并随着盐酸氯丙嗪浓度的增高及作用时间的延长,Pr 值呈现逐渐下降的趋势($P<0.05$)。当作用浓度同为 112 μmol/L 时,盐酸氯丙嗪与 Caco-2 细胞作用 15 min 时的 Pr 值显著高于作用时间为 60 min 和 120 min 的 Pr 值($P<0.05$);当盐酸氯丙嗪浓度 <112 μmol/L 时,则无论作用时间长短,Pr 值未见显著差异($P>0.05$)。同一浓度组中,各作用时间与 Pr 值间存在显著性负相关(28 μmol/L 组 $r=-0.322$, 56 μmol/L 组 $r=-0.319$, 112 μmol/L 组 $r=-0.571$),即随着作用时间的增加 Pr 值逐渐降低($P<0.05$)。

表 2　盐酸氯丙嗪不同浓度及不同作用时间对 Caco-2 细胞膜脂质荧光偏振度 Pr 值的影响($n=25$, $\bar{x}\pm s$)

浓度	15 min	30 min	60 min	120 min
28 μmol/L	0.306 9±0.154 9	0.260 5±0.125 3[a]	0.286 3±0.125 1[a]	0.245 7±0.078 2[a]
56 μmol/L	0.216 4±0.078 4[a]	0.252 2±0.131 8[a]	0.279 1±0.111 0[a]	0.219 5±0.056 9[a]
112 μmol/L	0.302 7±0.096 3[ab]	0.256 2±0.085 0[ab]	0.193 1±0.120 7[ab]	0.185 3±0.022 6[ab]

空白对照组 Pr 值:(0.410 0±0.092 9)　a:$P<0.05$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与同浓度组组内比较

3　讨论

Caco-2 细胞系来源于人类结、直肠癌,在普通的培养条件下就可在有孔多聚碳酸酯膜上自发的分化为类肠上皮细胞单层。Caco-2 细胞在形态学上具有与肠上皮细胞相同的细胞极性和紧密连接,同时在正常肠道上皮中的各种转运系统及与肠道刷状缘上皮相关的各代谢酶系,如 P450 细胞色素同功酶、谷氨酰胺转肽酶、碱性磷酸酶与糖、氨基酸、二肽、维生素 B_{12} 等在 Caco-2 细胞中均有类似表达。因此,Caco-2 细胞模型可在细胞水平提供关于药物分子通过肠道黏膜的吸收、代谢、转运等信息,近年来已被广泛应用于药物转运途径以及吸收机制的研究[3-5]。

Bradford 检测法是一种迅速可靠的测定溶液中蛋白质的方法,通过考马斯亮蓝 G-250 在一定浓度的乙醇及酸性条件下,可与蛋白质结合形成蓝色络合物质,该结合物于 595 nm 处具最大吸光度,且络合物颜色深浅与蛋白质浓度的高低成正比关系[6,7]。当细胞完整性被破坏时,由于胞内蛋白或酶类物质溢出,离心沉淀细胞碎片后可通过测定上清液中蛋白含量反映细胞膜完整性的变化情况。因而可由测定所得上清液吸光度值,计算细胞破坏百分率从而反映盐酸氯丙嗪对 Caco-2细胞膜完整性的影响。本研究表明盐酸氯丙嗪对此测定方法无影响。

本实验结果显示经高浓度盐酸氯丙嗪(>140 μmol/L)作用 Caco-2 细胞后,上清液中蛋白质含量增高,且镜下观察到细胞膜不平整,出现突起或破裂,这说明盐酸氯丙嗪能对细胞膜造成损伤,程度与其作用浓度的高低相关,随药物浓度的增加膜的完整性水平降低。本实验结果还显示当盐酸氯丙嗪浓度超过 1 120 μmol/L 时,细胞膜的破坏程度逐渐趋于最大(接近 80%),不再随盐酸氯丙嗪作用浓度的增加而增大,提示盐酸氯丙嗪对 Caco-2 细胞膜的破坏作用不完全,原因可能与盐酸氯丙嗪同细胞膜内的磷脂的相互作用程度有关。Suwalsky 等[8]也观察到,盐酸氯丙嗪导致红细胞形态由正常双凹圆盘形变为异常形态,在 0.1 ~1 mmol/L 浓度范围内出现溶血现象。这种形态学的改变很可能是因为盐酸氯丙嗪分子与红细胞膜的脂质双分子层相互作用,且不同程度地改变了内、外脂质层结构,则红细胞呈现为棘形或球口形等异常形态。同样,Caco-2 细胞在盐酸氯丙嗪处理后,膜的内、外脂质层可能与盐酸氯丙嗪分子相互作用的部位及程度不一致,各层形态变化有差异,导致细胞膜出现不平整或破裂,此损伤程度还与盐酸氯丙嗪浓度相关。

细胞膜流动性的主要研究方法有:差示扫描量热法、电子自旋共振法、核磁共振法、X-射线衍射法及 DPH 荧光探针法;其中 DPH 荧光探针法具有操作简便、快速准确等特点,因而在大量研究中采用此法进行细胞膜流动性的考察。当荧光探针试剂 DPH 与细胞膜脂质温育结合后,掺入到细胞膜脂的非极性烃链区,

由于其分子长轴与磷脂分子接近于平行排列,因此当烃链不活动时,荧光探针分子排列整齐,用一定波长偏振光激发后其所发射的荧光偏振强度较强;当烃链活动较大时,荧光探针分子则随着磷脂分子的活动有不同程度的转动,而使激发后所发射的荧光偏振强度较弱。荧光偏振度 Pr 值越小,反映出细胞膜脂流动度越大,反之亦然[9-11]。Wisniewska 等[12]研究显示,盐酸氯丙嗪可与多种饱和及不饱和脂质体(DMPC、DMPG、SOPC)膜相互作用,特别是与带负电荷的磷脂更易结合,进而改变脂质体膜的流动性。Maruoka 等[13]通过动态阳离子放射自显影技术考察了在新鲜大鼠脑切片中盐酸氯丙嗪对质膜通透性的影响,结果显示盐酸氯丙嗪能诱导质膜间隙增大,使大鼠脑细胞膜流动性与通透性增大,且该过程具有浓度依赖性。本实验也证明盐酸氯丙嗪在低浓度(<112 μmol/L)就可明显增加 Caco-2 细胞膜流动性,且随作用时间的延长而增加,这可能与盐酸氯丙嗪的亲水亲脂特性有关。盐酸氯丙嗪的三环硫氮杂蒽母核,能够容易地与膜双分子层的大量烃基结合,而末端丙胺基团又可作为亲水部分与双分子层磷脂相互作用;当渗入细胞膜与磷脂融合后,由于盐酸氯丙嗪分子数量较少,无法直接破坏细胞膜,而只能引起小范围内有序结构的改变或磷脂与膜蛋白的变化,使膜结合蛋白的空间构象或脂质双分子层发生一定程度的改变,进而增大细胞膜流动性[14,15]。

本实验中从时间-Pr 曲线上观察到,Pr 曲线存在逐渐降低的趋势,但在盐酸氯丙嗪浓度低于 112 μmol/L 时,Pr 曲线在作用前期还呈现出一个回升的小峰;当盐酸氯丙嗪浓度增大至 112 μmol/L 时,Pr 值曲线随时间的增加呈现单一的下降趋势,却不出现回升,这一现象提示受低浓度盐酸氯丙嗪作用后,Caco-2 细胞膜有可能通过自我调节作用以抵抗外部刺激,一定程度地稳定细胞膜结构,使细胞膜流动性向正常状态恢复。

因此,本研究表明,盐酸氯丙嗪显著影响 Caco-2 细胞的稳定,不同的浓度对 Caco-2 细胞的影响程度不同,低浓度时影响细胞膜的流动性,高浓度时导致细胞膜结构破坏。通过提高直肠黏膜上皮细胞膜流动性降低其稳定性,诱导质膜间隙的扩大,以及破坏膜的完整结构是盐酸氯丙嗪促进药物直肠吸收的机制之一,而盐酸氯丙嗪亲水亲脂的两亲性分子结构可能是其作用的基础。

参考文献:

[1] Fix J A, Leppert P S, Porter P A, *et al*. The use of phenothiazines to enhance the rectal absorption of water-soluble compounds[J]. J Pharm Pharmacol, 1984, 36(4): 286-288.

[2] 王章阳, 李志刚, 王亮明, 等. 安乃近微型灌肠剂兔生物利用度研究[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(2): 57-60.

[3] Collett A, Tanianis-Hughes J, Carlson G L, *et al*. Comparison of P-glycoprotein-mediated drug-digoxin interactions in Caco-2 with human and rodent intestine: relevance to *in vivo* prediction[J]. Eur J Pharm Sci, 2005, 26(5): 386-393.

[4] Smalley J, Kadiyala P, Xin B, *et al*. Development of an on-line extraction turbulent flow chromatography tandem mass spectrometry method for cassette analysis of Caco-2 cell based bi-directional assay samples [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006, 830(2): 270-277.

[5] 廖 沙, 谢剑炜. Caco-2 细胞模型在药物体外研究中的应用[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(4): 416-419.

[6] 王家政, 范 明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 42-46.

[7] Naill M C, Roberts S C. Flow cytometric analysis of protein content in Taxus protoplasts and single cells as compared to aggregated suspension cultures[J]. Plant Cell Rep, 2005, 23(8): 528-533.

[8] Suwalsky M, Villena F, Sotomayor C P, *et al*. Human cells and cell membrane molecular models are affected *in vitro* by chlorpromazine [J]. Biophys Chem, 2008, 135(1-3): 7-13.

[9] Coccia R, Spadaccio C, Foppoli C, *et al*. The effect of simvastatin on erythrocyte membrane fluidity during oxidative stress induced by cardiopulmonary bypass: a randomized controlled study[J]. Clin Ther, 2007, 29(8): 1706-1717.

[10] Bahri M A, Seret A, Hans P, *et al*. Does propofol alter membrane fluidity at clinically relevant concentrations? An ESR spin label study [J]. Biophys Chem, 2007, 129(1): 82-91.

[11] Swapna I, SathyaSaikumar K V, Murthy Ch R K, *et al*. Membrane alterations and fluidity changes in cerebral cortex during acute ammonia intoxication[J]. Neurotoxicology, 2006, 27(3): 402-408.

[12] Wisniewska A, Wolnicka-Glubisz A. ESR studies on the effect of cholesterol on chlorpromazine interaction with saturated and unsaturated liposome membranes[J]. Biophys Chem, 2004, 111(1): 43-52.

[13] Maruoka N, Murata T, Omata N, *et al*. Effects of chlorpromazine on plasma membrane permeability and fluidity in the rat brain: a dynamic positron autoradiography and fluorescence polarization study[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2007, 31(1): 178-186.

[14] Ahyayauch H, Requero M A, Alonso A, *et al*. Surfactant effects of chlorpromazine and imipramine on lipid bilayers containing sphingomyelin and cholesterol[J]. J Colloid Interface Sci, 2002, 256(2): 284-289.

[15] Pickholz M, Oliveira O N Jr, Skaf M S. Interactions of chlorpromazine with phospholipid monolayers: effects of the ionization state of the drug[J]. Biophys Chem, 2007, 125(2-3): 425-434.

(编辑 王小寒)