

磷脂膜色谱及其在生物药剂学中的应用

孙 进*, 王淑君, 程 刚, 陈济民

(沈阳药科大学 药学院 生物药剂学研究室, 辽宁 沈阳 110016)

关键词: 磷脂膜色谱; 亲脂性; 膜相互作用; 跨膜转运

中图分类号: R945.1; R917.01

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2003)06-0475-06

Immobilized artificial membrane chromatography and its application in biopharmaceutics

SUN Jin*, WANG Shu-jun, CHENG Gang, CHEN Ji-min

(Department of Biopharmaceutics, School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Key words: immobilized artificial membrane chromatography; lipophilicity; membrane interactions; membrane transport

亲脂性参数在解释药物体内吸收、分布和排泄及预测生物活性等方面的重要性早已被人们认识。几种简单有机溶剂/水分配系统的模型都曾被用于评价药物的亲脂性,但其中取得较为成功的为正辛醇/水系统^[1]。在定量构效关系和药物合理设计上,它已成为标准疏水性参数,构成了药物特征参数的数据库。近年来,研究表明正辛醇/水系统并不能完全模拟所有类型药物在生物膜模型(液晶态脂质体膜)上的分配行为,导致其不能解释由不同化学结构类型药物组成集合的药动学和药效学特征。研究结果表明其分配系数与稳态下脑/血浓度比值或穿透血脑屏障渗透系数间无明显联系^[2]。这主要是因为各向同性、不带电荷中心的正辛醇相并不是呈液晶态生物膜上有序磷脂双分子层的客观模型。

为了建立更精确的生物膜模拟系统,曾有文献^[3]报道合成了磷脂膜界面(immobilized artificial membrane, IAM),并将其作为固定相填料引入高效液相色谱系统,组成了磷脂膜色谱(IAM chromatography)。

对结构相似的苯乙胺衍生物,磷脂膜色谱与正辛醇/水系统给出相似的亲脂性测量尺度($r = 0.985$)^[4];但对于由不同化学结构类型药物组成的集合,两个系统的亲脂性参数间相关性很差($r = 0.483$),数据点分散^[3,5],而脂质/水和磷脂膜色谱系统却能给出等同的亲脂性信息($r = 0.964$)^[6]。这是因为磷脂膜色谱与脂质体/水系统的膜界面能较好的模拟生物膜的双分子有序磷脂膜层,保持着有序的疏水性酰胺基链区域和带电荷中心的极性区域,其亲脂性参数能够反映出药物与生物膜间的多种作用力,包括疏水性、亲水性、静电、氢键和空间作用等;而正辛醇/水系统仅模拟生物膜的中心疏水区域,药物与正辛醇相的相互作用主要归结于疏水作用力。对于由不同化学结构组成的药物集合,与有序磷脂分子层的相互作用复杂,当疏水作用力的贡献不大或其他作用力程度不一时,其分配到有序磷脂分子层的过程并不能被正辛醇/水系统所模仿。但对于由结构相似药物组成的集合,若疏水性为主要的分配机制或其他作用相近时,磷脂膜色谱和正辛醇/水系统才能给出相似的亲脂性参数。因此磷脂膜色谱要比正辛醇/水系统更准确的评价药物与生物膜的相互作用,并给出更精确的药物亲脂性参数。

1 磷脂膜色谱

收稿日期: 2002-06-22.

* 通讯作者 Tel: 86-24-23953006, Fax: 86-24-83890024.

E-mail: sunjin66@21cn.com

1.1 磷脂膜的界面化学 磷脂膜界面是将单层的细胞膜磷脂或合成磷脂以较高的分子界面密度通过共价键键合到二氧化硅颗粒表面的丙基氨上,而形成的固态有序磷脂分子层^[4,7,8]。当将磷脂酰胆碱类似物的配体以酯键与表面上丙基氨结合后,由于空间位阻影响,表面上仍存在相当于配体分子数量两倍的残余氨基。由于它的存在使磷脂膜表面呈碱性,催化酯键水解,降低界面稳定性;此外它又参与了药物与磷脂膜间的相互作用,提高了酸性药物在色谱柱上的保留能力,同时减弱对碱性药物的保留能力。因此,有必要对表面上残余氨基进行屏蔽。一种能够成功除去表面上所有氨基的策略是先用碳10酰基链与空间位阻小的氨基形成酰胺,然后再使

用碳3酰基链深入空间位阻大的氨基附近,将其转化为中性的酰胺,使磷脂膜表面呈现中性。另外,也使用羧基乙酸甲酯(methyl glycolate, MG)对表面上残余氨基进行屏蔽,将碱性氨基转化为中性酰胺,不过同时引入了羟基。现已制备了20多种不同的磷脂膜界面,其中有3种界面被广泛使用,包括双链的酯键(^{c18}IAM, PC^{C18/3})、单链的酯键(^{c18}IAM, PC^{C18/3})和删除甘油骨架的单链(³⁶IAM, PC^{C18/3}) (图1),其中PC表示磷脂酰胆碱,左上标表示PC类似物配体的重要结构差异,如ester表示为双链酯键的配体,右上标表示用碳10酰基和碳3酰基链对残余氨基进行了屏蔽。

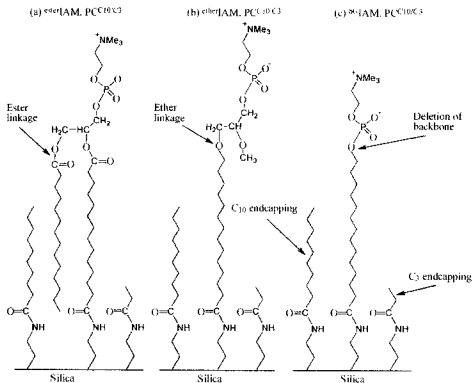


Figure 1 Chemical structures of three kinds of immobilized artificial membrane surface

Regis 技术公司(Regis Chem Co, Morton Grove, IL, USA)生产多种磷脂膜色谱柱,包括 IAM PC, IAM PC-MG, IAM PC-DD 和 IAM PC-DD2 等商品名的色谱柱,其中 IAM PC 为^{c18}IAM-PC,但残余的氨基未被屏蔽;IAM PC-MG 是将 IAM PC 色谱柱上的残余氨基用羧基乙酸甲酯屏蔽;IAM PC-DD 为^{c18}IAM-PC^{C18/3}类型色谱柱,膜表面呈亲水性,适合于强疏水性药物的测定,DD 为 drug discovery 的缩写;IAM PC-DD2 为^{c18}IAM-PC^{C18/3}类型色谱柱,膜表面呈疏水性。前两者主要用于蛋白质分离,也用来预测药物的跨膜转

运,后两者主要用于预测药物的膜渗透性。

在生物膜上,磷脂酰胆碱作为一种主要构成磷脂,但其他磷脂,如磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸和磷脂酸等,也以少数形式存在,而且它们在细胞正常生理过程中起重要作用。为更好的模仿生物膜这种特性,上述4种磷脂分别以较低的分子密度被固定到已含有高密度磷脂酰胆碱分子的磷脂膜表面,这4种磷脂分子的密度只是磷脂酰胆碱密度的6%~10%,与生物膜的磷脂组成相似。

1.2 磷脂膜的界面分子特征 Pidgeon 等^[9,10]运用

³¹P NMR 和分子动态学 (molecular dynamics, MD) 模拟技术对磷脂膜色谱的膜界面性质进行了考察。由 ³¹P NMR 测得¹⁰ IAM、PC¹⁰⁽¹³⁾ 溶剂化磷酸根基团的旋转-扩散相关时间 (rotational diffusion correlation time, τ_c) 在 1.0 ~ 0.2 ns, 与液态脂质体膜的 τ_c 值相近, 表明 IAM 和液态脂质体拥有相近的界面运动特性。对¹⁰ IAM、PC¹⁰⁽¹³⁾ 膜界面分子动态模拟 250 ps 后, 呈现出与棕榈酰油酰磷脂酰胆碱脂质体膜相类似的界面特征: ① 各种功能团, 如磷酸根、胆碱、甘油骨架等, 在磷脂膜色谱界面上的分布与脂质体膜界面相似; ② 只有极少量的水分子渗透到磷脂膜中心的非极性区域。因此磷脂膜色谱与脂质体/水系统拥有相似的膜界面性质, 为磷脂膜色谱模拟药物分配到液态脂质体膜, 以及与生物膜的相互作用奠定了物质基础。但是磷脂膜界面是一种固态基质上的有序单分子磷脂膜层; 而脂质体膜是模拟天然细胞生物膜的液态双分子磷脂膜层, 具有好的膜柔韧性、流动性和磷脂分子侧移性。由此可见两者在结构上仍然存在一定差别。

1.3 磷脂膜色谱的分析条件 磷脂膜色谱柱长一般为 3 或 15 cm, 直径为 0.46 cm, 固定相填料的粒径为 5 或 12 μm 。为了保护色谱柱, 通常在其前面串联类型相同的保护柱。流动相一般为 0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Dulbecco's 缓冲液, 调节到 pH 7.4 或 5.5, 但不应高于 7.5, 否则导致酯键水解, 磷脂分子流涎, 使得柱子过早老化。流速根据柱子类型而定, 一般为 1.2 或 3 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。柱温通常选择在室温或 30 ~ 40 $^{\circ}\text{C}$, 但不能高于 45 $^{\circ}\text{C}$, 否则降低磷脂膜界面的稳定性。受试药物常溶于 0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液或先溶于甲醇液, 再用缓冲液稀释到 100 ~ 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。为了减少使色谱峰变宽的扩散效应, 进样体积应控制在 5 ~ 20 μL 。使用紫外检测器检测洗出液, 波长设置为受试药物的最大吸收峰或大多数药物都有吸收的波长范围 (215 ~ 230 nm)。药物容量因子 ($k'_{1\text{M}}$) 通过下式计算: $k'_{1\text{M}} = (t_R - t_0)/t_0$, 式中 t_R 为药物的保留时间, t_0 为死时间, 即色谱柱上不分配物质 (溶剂) 的保留时间。在尽可能情况下, 使用磷酸盐缓冲液作为流动相测定药物的容量因子, 但是由于一些化合物的亲脂性强, 不可能用磷酸盐缓冲液洗脱或洗脱时间太长, 所以必须在流动相中加入有机调节剂, 以在合适时间内将药物洗脱¹⁶。其中有有机调节剂在流动相中的百分比 (φ) 一般在 0 ~ 40%。由于在不同 φ 的流动相下, 药物的洗脱次序会发生改变,

必须将药物的 $\lg k'_{1\text{M}}$ 归一到 φ 为零时的容量因子 ($\lg k'_{1\text{M}}$), 即通过建立 φ 和 $\lg k'_{1\text{M}}$ 之间的线性曲线, 使用外推法求出 100% 磷酸盐缓冲液 ($\varphi = 0$) 作为流动相时药物的 $\lg k'_{1\text{M}}$, 它表示磷脂膜色谱上药物的分配系数。这样可使该数值代表药物在水相和磷脂膜相间的分配, 还可避免由于 φ 不同而造成的人为测量误差¹⁶。另外在实验过程中, 由于磷脂膜色谱柱易老化, 需要选择参考物质评价色谱柱的重现性, 在每批分析测试中均应对参考物质进行测定, 以考察其日内和日间的相对标准偏差是否符合测试要求, 保证数据测量的准确性和重现性。

2 磷脂膜色谱的应用

2.1 磷脂膜色谱预测药物的跨膜转运

小肠吸收 磷脂膜色谱被用来预测药物在小肠的吸收。使用在体小肠灌流模型测定 12 个药物在小肠的吸收百分比, 在消除分子质量因素后, $\lg k'_{1\text{M}}$ 远比由 ODS 反相色谱柱测定的药物容量因子 ($\lg k_{\text{ODS}}$ 、100% 磷酸盐缓冲液作为流动相时药物在 ODS 色谱柱的容量因子, 表示 ODS 色谱上药物的分配系数) 更能解释药物在小肠的吸收 ($r = 0.86$, 0.27)^{11,17}。Genty M 等¹² 利用大鼠小肠反转法考察药物经小肠吸收的机理, 使用多元回归和人工神经网络方法成功地从药物多个理化特性参数中寻找决定其经小肠吸收的参数——磷脂膜色谱的药物容量因子和分子体积。

Caco-2 细胞株是体外小肠上皮细胞的吸收模型, 用于研究候选药物的小肠吸收特性。磷脂膜色谱也成功地用于预测药物经 Caco-2 细胞单层的渗透性。对于 11 个由酸性、中性和碱性药物组成的受试集合, $\lg k'_{1\text{M}}$ 和药物的膜渗透系数 ($\lg P$) 存在显著相关性 ($r = 0.762$)。在考虑分子质量对扩散系数的影响后, r 升至 0.854¹⁸。但 Stewart BH 等¹⁴ 在 HIV 蛋白质抑制剂的新药研开发过程中, 运用 IAM PC DD 对药物的小肠吸收特性进行筛选, 发现 $\lg k'_{1\text{M}}$ 与 Caco-2 细胞的 $\lg P$ 的相关性很差 ($r^2 = 0.32$)。因为穿透生物膜的过程不仅取决于药物的亲脂性, 而且还受其分子体积和氢键势能的影响, 所以需要使用 $\lg k'_{1\text{M}}$ 、分子体积和氢键势能等多个参数来建立多元方程以描述 Caco-2 细胞的吸收, 使 r^2 得到明显改善, 达到 0.91。此外磷脂膜色谱要优于正辛醇/水系统来预测药物经 Caco-2 细胞单层的渗透性。

透过血脑屏障 Reichel A 等¹⁵ 比较磷脂膜色谱、ODS 反相色谱和正辛醇/水系统预测药物穿透血

脑屏障渗透性的能力。药物穿透体内血脑屏障的程度用脑摄取指标 (brain uptake index, BUI) 表征, 其中 BUI 是通过颈内总动脉注射技术测定的。注射液包括受试药物和高渗透性的参考物质 (通常为 $^3\text{H}_2\text{O}$)。注射药物 5~30 s 后将动物断头, 测定脑内受试药物和参考物质的浓度。BUI 等于受试药物传递到脑内的百分数与参考物质传递到脑内百分数的比值。选择了两类不同特性的受试药物集合, 一类为强亲脂性的甾体化合物, 另一类为亲水性的胺类化合物。对于这两类集合, $\lg k_{\text{IAM}}$ 分别显著的与它们的 $\lg \text{BUI}$ 相关 ($r^2 = 0.729$ 和 0.747)。但是 $\lg k_{\text{OAS}}$, $\lg K_{\text{OVB}}$ (药物在正辛醇/水系统中的热力学分配系数) 和 $\lg D_{\text{OVB}, 7.4}$ (药物在正辛醇/水系统中 pH 7.4 的表现分配系数) 仅只与强亲脂性甾体化合物的 $\lg \text{BUI}$ 有明显的相关 ($r^2 = 0.789, 0.659$ 和 0.809), 而不能解释亲水性胺类化合物的血脑屏障渗透性。对于强亲脂性的甾体化合物, $\lg k_{\text{IAM}}$ 分别与 $\lg k_{\text{OAS}}$, $\lg K_{\text{OVB}}$ 和 $\lg D_{\text{OVB}, 7.4}$ 具有良好相关性 ($r^2 = 0.945, 0.867$ 和 0.974); 但对于亲水性胺类化合物, 它们之间不存在相关性。因此强亲脂性化合物在 3 种评价系统中的分配行为是受同一种力量控制 (疏水作用力), 而对于极性和离子型溶质, 其包含在磷脂膜色谱中但并不体现在正辛醇/水和 ODS 反相柱上的作用力决定了其穿透血脑屏障的能力。

透皮吸收 磷脂膜色谱也用于研究药物的透皮吸收。Barbato F 等^[16] 选择不同化学结构类型的 12 个药物。由 $\lg k_{\text{IAM}}$ 和 $\lg K_{\text{OVB}}$ 的相关性可知磷脂膜色谱与正辛醇/水系统的亲脂性测量尺度不同, 这是因为有序磷脂分子层能够支持解离型药物分子分配入生物膜, 并且因药物的特殊结构区域而显示出吸附或排斥性的额外作用力。根据原先以疏水性作用力为基础的 $\lg k_{\text{IAM}}$ 与 $\lg K_{\text{OVB}}$ 关系式, 利用 $\lg K_{\text{OVB}}$ 值计算出基于疏水性参数的 $\lg k_{\text{IAM}(\text{calc})}$ 值, 再从 $\lg k_{\text{IAM}}$ 值中减去得 $\Delta \lg k_{\text{IAM}}$ 。后者能定量药物与磷脂膜间的额外作用力强度 (包括氢键、静电作用力和空间效应)。药物透过人皮肤的渗透系数 ($\lg K_p$) 与 $\lg k_{\text{IAM}}$ 和 $\lg K_{\text{OVB}}$ 均无相关性, 但却与 $\Delta \lg k_{\text{IAM}}$ 存在显著的斜率为负值的线性相关, 这表明药物与有序磷脂分子膜的非疏水性作用强度越小, 药物的透皮吸收能力越高, 例如药物形成氢键的能力高, 由于它与皮肤中组成成分形成氢键从而阻碍了其透皮吸收。但对于一系列正烷基醇类, IAM PC DD 磷脂膜色谱的 $\lg k_{\text{IAM}}$ 与实验所测定的人皮肤渗透系数 ($\lg K_p$) 呈现良好

线性相关 ($r^2 = 0.989$), 并且比 ODS 柱色谱的预测能力强 ($r^2 = 0.833$), 因此亲脂性在皮肤渗透性上起着相当重要的作用, 且磷脂膜色谱能够较好的预测药物的透皮吸收^[17]。

寡肽药物的亲脂性评价 Brochard RT^[18, 19] 使用 IAM PC DD 磷脂膜色谱考察了分子大小、荷电性质、线性和环性肽链对寡肽亲脂性的影响。总的来说, 寡肽分子一般都是亲水性的, 这从它们与有序磷脂膜的弱相互作用得到证实, $\lg k_{\text{IAM}}$ 的范围大约在 $-1.62 \sim 0.26$ 。亲脂性随着肽链的延长而增强。当分别比较其中有 1 个氨基酸不同的三肽或六肽分子亲脂性时, 如赖氨酸 (带净正电荷)、天门冬氨酸 (带净负电荷) 和天门冬氨酸酰胺 (净中性), 含有赖氨酸净正电荷的三肽或六肽分子的亲脂性大于含有天门冬氨酸酰胺净中性的三肽或六肽分子, 后者又大于含有天门冬氨酸净负电荷的三肽或六肽分子的亲脂性。碱性胺类化合物表现出较高的亲脂性是由于结构互补的磷脂膜极性头部的磷酸根基团和胺类溶质的阳离子之间产生有利的静电作用, 从而支持胺类溶质的阳离子分配进入脂质相, 而负电荷的存在却抑制了寡肽分配到脂质相。将线性寡肽环化之后形成的环寡肽, 降低了氢键势能, 明显增加了亲脂性, 促进药物穿透细胞途径的吸收 (transcellular path)。结构分析数据表明, 与前体线性寡肽相比, 环寡肽的空间柔韧性降低, 在水溶液中以特异的 α -螺旋存在, 导致氢键势能降低, 亲脂性增强。

体内分布 Barton P 等^[20] 定义一个参数 $\Delta \lg D_{(\text{n-octanol/water-membrane/water})} = \lg D_{\text{OVB}, 7.4} - \lg k_{\text{IAM}}$, 来描述药物在假想的正辛醇相和磷脂膜相间的分配程度, 以解释药物在体内的分布。脂肪组织蓄积因子 (adipose tissue storage index, ASI) 表示药物在脂肪组织和瘦肉组织 (lean tissue) 间的分配平衡, 为定量描述药物体内分布的一个参数, 其中 $\text{ASI} = C_{\text{ad max}}/D_{\text{ad max}}$ ($C_{\text{ad max}}$ 为单剂量给药后脂肪组织中药物的达峰浓度, $D_{\text{ad max}}$ 为 $t = t_{\text{ad max}}$ 时, 药物在体内平均分布的假定浓度)。脂肪组织是以三甘油酯液体形式存在的无序脂质, 类似于无序的正辛醇相, 而瘦肉组织具有组成细胞内膜和外膜的有序磷脂分子膜, 因此可以使用药物在正辛醇相和磷脂膜相的体外分配平衡参数, $\Delta \lg D_{(\text{n-octanol/water-membrane/water})}$ 来模拟 ASI 系统中药物在脂肪组织和瘦肉组织间的竞争性分配平衡。研究证明药物的 ASI 值仅与

$\Delta \lg D_{(n\text{-octanol/water-membrane/water})}$ 具有相关性,而与 $\lg K_{\text{OW}}$ 、 $\lg K_{\text{OB}}$ 和 $\lg D_{\text{O/W},7.4}$ 无相关性。

肺泡巨噬细胞内的蓄积和跨膜转运 以培养的肺泡巨噬细胞单层为体外模型。选用磷脂膜色谱 ($\lg k_{\text{IM}}$)、脂质体/水 ($\lg D_{\text{O/W},7.4}$ 、药物在脂质体/水系统中 pH 7.4 的表现分配系数) 和正辛醇/水 ($\lg D_{\text{O/W},7.4}$) 系统来评价药物的亲脂性,结果显示 $\lg k_{\text{IM}}$ 和 $\lg D_{\text{O/W},7.4}$ 均比 $\lg D_{\text{O/W},7.4}$ 与细胞内药物的蓄积度有更好的相关 ($r^2 = 0.89, 0.92$ 和 0.67)。揭示了脂质体/水系统和磷脂膜色谱所测定的膜亲和性比正辛醇/水系统的疏水性更好的预测巨噬细胞内药物的结合能力,有序的磷脂分子膜可能是巨噬细胞内部药物潜在的结合部位。但对于化学结构类型相似的药物组成的受试集合,3者均与药物进入细胞内的速度具有相近的显著的正相关性 ($r^2 = 0.89, 0.76$ 和 0.74)。说明被动转运为药物跨肺泡巨噬细胞膜的主要转运形式^[6]。

2.2 预测药效活性^[21, 22] Barbato ^[21] 用 IAM PC-MG 柱考察非甾体抗炎药 (NSAIDs) 与磷脂膜的相互作用,并用于预测其抑制环氧合酶 1 或 2 (COX-1 和 COX-2) 的半数抑制量 (IC_{50})。由于药物到达靶点酶作用部位依赖于它们的亲脂性,进而影响其药效活性。COX-2 的半数抑制量 (pIC_{50}) 与 $\lg k_{\text{IM}}$ 间的相关要明显优越于与 $\lg K_{\text{OB}}$ 的相关。但是 COX-1 却并不存在类似的相关性。这说明环氧合酶两种异构酶 COX-1 和 COX-2 在细胞内分布位置是不同的,并且亲脂性仅是 NSAIDs 特异性结合 COX-2 的前提条件。

2.3 作为亲脂性参数参与药物和大分子的相互作用 Kaliszan R 等^[23] 使用“定量结构-保留关系原理”来研究抗组胺药物与 α_1 -糖蛋白 (α_1 -glycoprotein) 结合的模式图,其中使用磷脂膜色谱考察药物的亲脂性。抗组胺药物与 α_1 -糖蛋白的结合强度与 $\lg k_{\text{IM}}$ 存在显著相关性,揭示了这种结合过程主要是基于疏水作用的。在考虑药物的分子体积和静电作用力等因素后,多元回归方程的质量得到进一步改善 (r 由 0.957 上升至 0.986),结果说明带正电荷有助于药物与 α_1 -糖蛋白的结合,且结合部位有一定的空间限制,要求药物分子体积不应过大。

结论

随着药物合成化学的进步,例如组合化学、受体的三维结构解析和计算机辅助设计等手段,合成化合物的数目大幅增加,这要求生物药剂学专家寻找

到一种快速筛选出具有适宜体内药动学特征的候选药物的工具。磷脂膜色谱作为一种方便、快捷的预测药物与生物膜相互作用和基于被动扩散的药物膜渗透性的色谱模型。另外,药物在体内的分布从本质上是一系列跨膜转运过程的综合效果,即使药物在某个转运阶段是基于主动转运的,但是它们仍需要以被动扩散的机制通过生物膜来发挥药物活性,因此在新药的研发阶段,药物与生物膜的相互作用是一个极其重要的信息,而磷脂膜色谱则提供了一种药物高通量筛选的有利工具。

磷脂膜色谱经常与其他评价系统 (正辛醇/水系统和 ODS 柱的 RP-HPLC 色谱法) 的亲脂性参数具有一定相关性,而它在很大程度上又提供了一种独特的测度尺度^[1, 5, 6, 15, 16]。磷脂膜色谱作为生物膜的一种模拟系统,它的最显著特征是固态的有序磷脂分子单层体系,保持着细胞生物膜中有序的疏水区域和亲水界面,而且与液态脂质体具有类似的界面特性;它可模拟药物与生物膜间的疏水、亲水、氢键、空间和静电等多种分子间作用力。这是磷脂膜色谱在模拟药物与生物膜间相互作用优越于简单有机溶剂/水和 ODS 反相色谱系统的基础。

References:

- [1] Hansch C, Dunn WJ. Linear relationship between lipophilic character and biological activity of drugs [J]. *J Pharm Sci*, 1972, 61(1): 1-18.
- [2] Chikhalo EG, Ng KY, Buxton PS, et al. Hydrogen bonding potential as a determinant of the *in vitro* and *in situ* blood-brain barrier permeability of peptides [J]. *Pharm Res*, 1994, 11(3): 412-449.
- [3] Ong S, Liu H, Qiu X, et al. Membrane partition coefficients chromatographically measured using immobilized artificial membrane surfaces [J]. *Anal Chem*, 1995, 67(4): 755-762.
- [4] Yang CY, Cai SJ, Liu HL, et al. Immobilized artificial membranes - screens for drug membrane interactions [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1996, 23(2): 229-256.
- [5] Sun J, Deguchi Y, Chen JM, et al. Evaluating interactions of amphiphilic molecules with phospholipid membrane using immobilized artificial membrane chromatography [J]. *Pharmazie* (in press).
- [6] Sun J, Deguchi Y, Chen JM, et al. Interactions between quinolone antibiotics and phospholipid membrane for prediction of alveolar macrophage uptake [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(5): 430-438.
- [7] Ong S, Liu H, Polgen C. Immobilized-artificial-membrane chromatography: measurements of membrane partition coefficient and predicting drug membrane permeability [J]. *J Chromatogr*, 1996, 728(1-2): 113-128.

- [8] Pidgeon C, Ong S, Choi H, *et al.* Preparation of mixed ligand immobilized artificial membranes for predicting drug binding to membranes [J]. *Anal Chem*, 1994, **66**(17):2701-2709.
- [9] Qiu X, Pidgeon C. A ^{31}P NMR study of immobilized artificial membrane surface: structure and dynamics of immobilized phospholipid [J]. *J Phys Chem*, 1993, **97**:12399-12407.
- [10] Sheng Q, Shulten K, Pidgeon C. Molecular dynamics simulation of immobilized artificial membrane [J]. *J Phys Chem*, 1995, **99**:11018-11026.
- [11] Schanker LS, Tocco DJ, Brodie BB, *et al.* Absorption of drugs from the rat small intestine [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1958, **123**(1):81-88.
- [12] Genty M, Gonzalez G, Clerc C, *et al.* Determination of the passive absorption through the rat intestine using chromatographic indices and molar volume [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2001, **12**(3):223-229.
- [13] Pidgeon C, Ong S, Liu H, *et al.* IAM chromatography: an *in vitro* screen for predicting drug membrane permeability [J]. *J Med Chem*, 1995, **38**(4):590-594.
- [14] Stewart BH, Chung FY, Tait B, *et al.* Hydrophobicity of HIV protease inhibitors by immobilized artificial membrane chromatography: application and significance to drug transport [J]. *Pharm Res*, 1998, **15**(9):1401-1406.
- [15] Reichel A, Begley DJ. Potential of immobilized artificial membranes for predicting drug penetration across the blood-brain barrier [J]. *Pharm Res*, 1998, **15**(8):1270-1274.
- [16] Barbato F, Cappello B, Miro A, *et al.* Chromatographic indexes on immobilized artificial membrane for the prediction of transmembrane transport of drugs [J]. *Il Farmaco*, 1998, **53**(6):655-661.
- [17] Alvarez FM, Bottom CB, Chikhalo P, *et al.* Immobilized artificial membrane chromatography: Prediction of drug transport across biological barriers [A]. Ngo TT. *Molecular Interactions in Bioseparations* [M]. New York: Plenum Press, 1999. 151-167.
- [18] Pauletti GM, Okuma FW, Borchardt RT. Effect of size and charge on the passive diffusion of peptides across caco-2 cell monolayers via the paracellular pathway [J]. *Pharm Res*, 1997, **14**(2):164-168.
- [19] Okuma FW, Pauletti GM, Velde DGV, *et al.* Effect of restricted conformational flexibility on the permeation of model hexapeptides across caco-2 cell monolayer [J]. *Pharm Res*, 1997, **14**(2):169-175.
- [20] Barton P, Davis AM, McCarty DJ, *et al.* Drug-phospholipid interactions. 2. Predicting the sites of drug distribution using n-octanol/water and membrane/water distribution coefficients [J]. *J Pharm Sci*, 1997, **86**(9):1034-1039.
- [21] Barbato F, Rotonda ML, Quaglia F. Interactions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with phospholipids: comparison between octanol/buffer partition coefficients and chromatographic indexes on immobilized artificial membranes [J]. *J Pharm Sci*, 1997, **86**(2):225-229.
- [22] Barbato F, Rotonda ML, Quaglia F. Chromatographic indexes on immobilized artificial membrane for local anesthetics: relationships with activity data on closed sodium channels [J]. *Pharm Res*, 1997, **14**(12):1699-1705.
- [23] Kabison R, Nasal A, Turowski M. Quantitative structure-retention relationships in the examination of the topography of the binding site in antihistamine drugs on α_1 -glycoprotein [J]. *J Chromatogr*, 1996, **772**(1-2):25-32.