

文章编号: 1004-4353(2017)02-0131-06

胡椒碱对紫杉醇自乳化给药系统 口服生物利用度的影响

全姬善¹, 于婷¹, 李梅¹, 杨萍¹, 孙鹏^{2*}

(1. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133000; 2. 延边大学附属医院 药剂科, 吉林 延吉 133000)

摘要: 考察胡椒碱对紫杉醇自乳化给药系统(SED DS)口服生物利用度的影响. 首先采用伪三元相图筛选出紫杉醇 SED DS 的最优处方, 然后利用高效液相色谱法测定 SD 大鼠口服给药胡椒碱和紫杉醇 SED DS 后的血浆中的药物浓度, 并考察紫杉醇 SED DS 的药物动力学参数. 研究表明, 将 P-糖蛋白抑制剂胡椒碱 SED DS 与紫杉醇 SED DS 联合应用后能显著提高紫杉醇口服生物利用度($P < 0.01$).

关键词: 紫杉醇; 胡椒碱; 自乳化给药系统; SD 大鼠; 药物动力学

中图分类号: R944.9

文献标识码: A

Effect of piperine on oral bioavailability of paclitaxel self emulsifying drug delivery system

QUAN Jishan¹, YU Ting¹, LI Mei¹, YANG Ping¹, SUN Peng^{2*}

(1. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China;

2. Department of Pharmacy, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, China)

Abstract: We investigate the effect of piperine on oral bioavailability of paclitaxel self emulsifying drug delivery system (SED DS). First, the optimal formulation of the paclitaxel SED DS was screened by pseudo-ternary phase diagram design and then the serum concentrations of paclitaxel SED DS were detected in SD rats after oral delivery piperine and paclitaxel SED DS by HPLC. The plasma concentration of paclitaxel was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The oral bioavailability of paclitaxel after single dose was significantly increased by SED DS ($P < 0.01$) and co-administration of piperine ($P < 0.01$).

Keywords: paclitaxel; piperine; self emulsifying drug delivery system(SED DS); SD rat; pharmacokinetics

0 引言

紫杉醇(paclitaxel, 商品名 Taxol, Tax)是从一种常绿乔木(红豆杉科, 红豆杉属(Taxus))中分离提取得到的天然化合物^[1], 因具有抗微管的作用, 被作为抗癌药物应用于临床^[2-3]. 由于现有剂型-紫杉醇注射剂容易引起过敏以及低血压等副作用^[4-5], 因此临床常用口服给药的方式. 口服给药的方式虽然患者依从性较好, 但由于紫杉醇

水溶性较差, 因此存在生物利用度较低的问题. 为提高紫杉醇的口服生物利用度和降低其毒副作用, 学者们对此进行了许多研究, 如: 文献[6-7]研究表明, 紫杉醇与 P-gp 或 CYP3A 酶抑制剂联合用药可提高紫杉醇口服生物利用度; 文献[8]研究表明, 胡椒碱作为 P-糖蛋白抑制剂, 在 $10 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内能呈剂量依赖性地抑制 P-gp 所介导的 [^3H]-地高辛在 L-MDR1 和 Caco-2 细胞膜上的外排作用.

自乳化药物传递系统(self-emulsifying drug delivery system, SEDDS)是近年来发展起来的新型给药系统,该系统能够通过提高药物的溶解度来改善药物的溶出,并且通过降低药物的表面张力来增加药物对肠道上皮细胞的穿透性,从而进一步提高药物口服生物利用度^[9-11]. 基于上述研究,本文通过制备紫杉醇自乳化给药系统,通过对SD大鼠进行体内药物动力学实验,探讨胡椒碱对紫杉醇自乳化给药系统口服生物利用度的影响.

1 材料与方法

1.1 试剂

紫杉醇(湖北盛天恒创生物科技有限公司);胡椒碱(美国 Sigma);辛酸葵酸甘油三酯(法国佳法赛);大豆油(铁岭北亚药用油有限公司);花生油(莱阳鲁花浓香花生油有限公司);单油酸甘油酯,辛酸葵酸聚乙二醇甘油酯,丙二醇单月桂酸甘油酯及二乙二醇单乙基醚(法国佳法赛);聚氧乙烯氢化蓖麻油(武汉新大地化工有限公司);聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(南京威尔化工有限公司);瑞替加滨(大连美仑生物技术有限公司);乙腈(色谱纯,北京恒通化工有限公司);甲基叔丁基醚(分析纯,北京恒通化工有限公司);乙酸铵(分析纯,北京化工厂).

1.2 仪器

岛津 LC-20AB 高效液相色谱仪(日本岛津公司);UC-2450 紫外分光光度计(日本岛津公司);TGL-16 高速离心机(金坛市鑫诺实验仪器厂);Nicomp-380/ZLS 激光粒度测定仪(美国 Nicomp 公司);电子天平(上海精密仪器仪表有限公司).

2 实验方法

2.1 SEDDS 辅料的筛选

称取过量的紫杉醇和胡椒碱,分别加入至 1 mL 不同辅料中,在 37 °C 下震荡 72 h 后,离心 10 min (3 000 r/min);取上清液 100 μ L 加入 0.5 mL 乙腈,涡旋混合,离心 10 min (3 000 r/min);取上清液用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,采用 HPLC 方法检测紫杉醇与胡椒碱在各种不同辅料中的溶解度. 通过比较各种辅料在体内的影响,筛选出最佳的油相、乳化剂以及助乳化剂.

2.2 伪三元相图的制备

采用 2.1 中筛选的油相、乳化剂和助乳化剂绘制伪三元相图. 选择 5%~25%范围内的油相,在乳化剂比例大于助乳化剂比例的基础上,混合油相、乳化剂、助乳化剂. 将油相、乳化剂、助乳化剂混合均匀后,取 50 μ L 混合液滴加至 250 mL 蒸馏水中观察现象,若现象呈均匀、透明、无油滴漂浮或者略有乳光的现象即为自乳化区域. 观察现象的同时记录系统相的变化,并将相应的点绘制在相图上.

2.3 紫杉醇混悬液和 SEDDS 的制备

称取适量紫杉醇,加入到 5% HPMC 溶液中,然后用均质机使其分散均匀,即得紫杉醇混悬液. 称取适量紫杉醇,按 2.2 中所得 SEDDS 处方加入辅料,超声 5 min 助溶,制得 20 mg/mL 的紫杉醇 SEDDS.

2.4 胡椒碱 SEDDS 的制备

称取适量胡椒碱,按 2.2 中所得 SEDDS 处方加入辅料,超声 5 min 助溶,制得 30 mg/mL 的胡椒碱 SEDDS.

2.5 方法学考察

2.5.1 空白血浆的制备 随机取 3 只 250~300 g SD 雄性大鼠,股动脉插管取血,将血样置于含有肝素的离心管中,离心 15 min (3 000 r/min);移取血浆至另一离心管中,冷藏保存.

2.5.2 血浆样品处理与测定 取血浆样品 150 μ L 置于 1.5 mL 离心管中,依次加入浓度为 2.5 μ g/mL 内标溶液 30 μ L 和 0.5 mL 乙腈,涡旋提取 20 min,离心 10 min (3 000 r/min),移取上清液至 2 mL 离心管中. 残液中再次加入 0.5 mL 乙腈,涡旋提取 20 min,离心 10 min (3 000 r/min),合并上清液. 在上清液中加入 0.5 mL 甲基叔丁基醚,涡旋提取 20 min,离心 10 min (3 000 r/min),移取上清液,在 40 °C 真空干燥箱中烘干. 向残留物中加入 150 μ L 乙腈,涡旋提取 30 min,离心 15 min (3 000 r/min);移取上清液,采用高效液相法(HPLC)检测并记录色谱图.

2.5.3 专属性考察 采用高效液相法对大鼠空白血浆、含内标和紫杉醇标准溶液的血浆样品、含有内标和胡椒碱的血浆样品以及联合用药后的血浆样品进行检测,色谱图如图 1 所示.

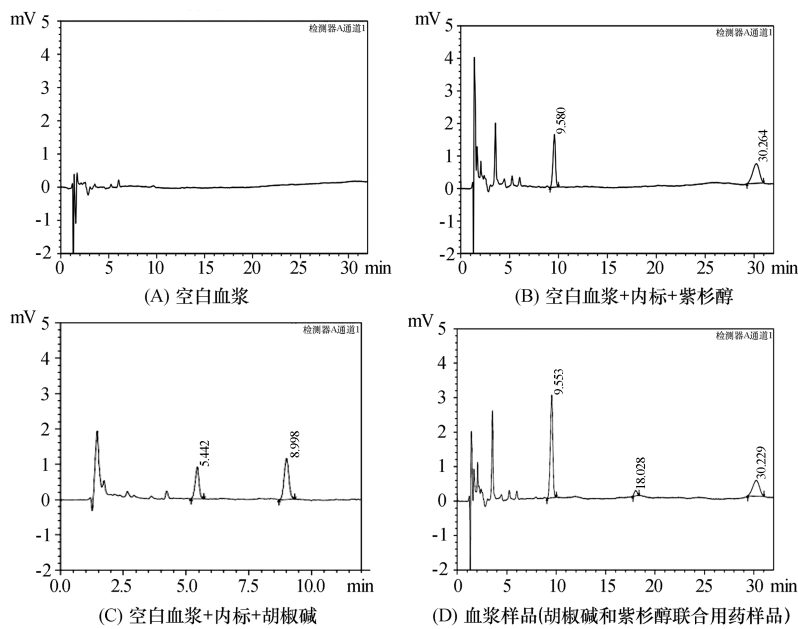


图 1 血浆样品色谱图

2.5.4 标准曲线绘制 1) 绘制紫杉醇标准曲线. 取空白血浆 150 μL , 加入 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液 30 μL , 再依次加入不同浓度的紫杉醇储备液, 配制紫杉醇质量浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1、2 $\mu\text{g/mL}$ 的血浆标准溶液, 按 2.5.2 方法处理. 以质量浓度为横坐标, 紫杉醇溶液的峰面积 A_1 与内标峰面积 A_2 的比值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $Y=0.918X+0.006$ ($n=5$, $r=0.999$). 该回归方程表明紫杉醇在 0.1~2 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好.

2) 绘制胡椒碱标准曲线. 取空白血浆 150 μL , 加入 5 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液 30 μL , 再依次加入不同浓度的胡椒碱储备液, 配制紫杉醇质量浓度分别为 0.5、1、2、5、10、15、20 $\mu\text{g/mL}$ 的血浆标准品. 处理方法同 2.5.2. 以质量浓度为横坐标, 紫杉醇溶液的峰面积 A_1 与内标峰面积 A_2 的比值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $Y=5.328X+0.024$ ($n=5$, $r=0.999$). 该回归方程表明胡椒碱在 0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好.

2.5.5 回收率实验 1) 提取回收率. 取空白血浆分别加入紫杉醇标准溶液, 配制质量浓度分别为 0.1、1、2 $\mu\text{g/mL}$ 的样品各 5 份, 按 2.5.2 方法处理. 采用高效液相法测得紫杉醇浓度 A_1 , 另取相应浓度的紫杉醇标准溶液进样得出浓度为 A_2 , 提取回收率的计算方程为 $F=(A_1/A_2)\times 100\%$, 计

算结果见表 1. 2) 方法回收率. 取空白血浆分别加入紫杉醇标准溶液, 配制质量浓度分别为 0.1、1、2 $\mu\text{g/mL}$ 的样品各 5 份. 处理方法同 2.5.2. 采用高效液相法测定紫杉醇浓度, 并计算方法回收率((加标试样测定值-试样测定值)/加标量), 结果见表 1.

表 1 血浆中紫杉醇的回收率($n=5$)

加入量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	提取回收率/ %	方法回收率/ %
2	95.04 \pm 1.137	99.60 \pm 1.294
1	90.75 \pm 1.986	99.40 \pm 2.408
0.1	90.62 \pm 0.861	92.60 \pm 2.302

由表 1 可以看出, 在不同浓度的样品中, 紫杉醇的提取回收率均大于 90%, 方法回收率的结果均在 90%~100% 范围内, 该结果符合生物样品分析的要求.

2.5.6 精密度实验 在空白血浆中分别加入适量的紫杉醇标准溶液, 配制质量浓度分别为 0.1、1、2 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液各 5 份, 按血浆样品处理方法进行处理. 以 1 d 内每个浓度的 5 个样品所测得的紫杉醇浓度计算日内精密度; 以连续 5 d 测得的紫杉醇浓度计算日间精密度, 结果见表 2. 由表 2 可以看出, 在不同浓度的样品中, RSD 均小于 5%, 且样品的测得浓度均与靶浓度接近, 说明紫杉醇精密度的结果符合生物样品分析的要求.

表 2 血浆中紫杉醇的日内、日间精密度($n=5$)

加入量/ ($\mu\text{g/mL}$)	日内		日间	
	测得量/ ($\mu\text{g/mL}$)	RSD/ %	测得量/ ($\mu\text{g/mL}$)	RSD/ %
2	1.929 ± 0.026	1.3	1.976 ± 0.043	2.18
1	0.994 ± 0.024	2.42	0.957 ± 0.027	2.83
0.1	0.093 ± 0.002	2.49	0.092 ± 0.003	3.02

2.5.7 血浆样品稳定性试验 取空白血浆和紫杉醇标准储备液,制备质量浓度为 2、1 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 的样品各 15 份.将样品在室温(25 $^{\circ}\text{C}$)条件下放置 4 h,然后在-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 24 h,取出融解,反复冻融 3 次;将样品在-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置 7、14、21、28、35 d,处理方法同 2.5.2.采用 HPLC 测定不同时间紫杉醇的峰面积,并将数值带入标准曲线计算其浓度,所得结果见表 3.表 3 表明,本实验样品的稳定性结果符合生物样品的分析要求.

表 3 血浆样品稳定性试验结果($n=5$) $\mu\text{g/mL}$

加入量	测得量		
	25 $^{\circ}\text{C}$, 4 h	-20 $^{\circ}\text{C}$, 3 次, 3 d	-20 $^{\circ}\text{C}$, 35 d
2	1.993 ± 0.025	1.990 ± 0.024	1.989 ± 0.030
1	0.987 ± 0.060	0.988 ± 0.019	0.989 ± 0.023
0.1	0.097 ± 0.002	0.093 ± 0.003	0.092 ± 0.002

2.6 紫杉醇混悬液和紫杉醇 SEDDS 单剂量的药动学实验

取 10 只 250~300 g SD 雄性大鼠,随机分为 2 组.第 1 组以 60 mg/kg 的剂量灌胃给药紫杉醇混悬液,第 2 组以 60 mg/kg 的剂量灌胃给药紫杉醇 SEDDS.分别在给药后 5、10、15、30、60、90、120、180、240、360、480 min,股动脉取血 0.5 mL 置含有肝素的离心管中,离心 15 min (3 000 r/min),按 2.5.2 中方法处理血浆样品,并利用 HPLC 测定血药浓度.

2.7 胡椒碱对紫杉醇药动学的影响

随机取 5 只 250~300 g SD 雄性大鼠,以 100 mg/kg 的剂量灌胃给药胡椒碱 SEDDS.股动脉取血,绘制血药浓度与时间曲线.

取 15 只 250~300 g SD 雄性大鼠,随机分为 3 组.首先以不同剂量(100、50、25 mg/kg)的胡椒碱 SEDDS 分别以灌胃给药的方式对 3 组大鼠进行给药,并标记,2 h 后将 60 mg/kg 的紫杉醇 SEDDS 再次灌胃给予上述 3 组大鼠.股动脉取血

并测定,方法同 2.6 中所述.

3 实验结果与讨论

3.1 辅料的筛选

紫杉醇在各辅料中的溶解度测定结果如表 4 所示.由表 4 可知,紫杉醇在 PECEOL,Labrasol 和 Transcutol HP 中的溶解度最大,而胡椒碱在 PECEOL、吐温-80 和 Transcutol HP 中的溶解度最大.文献[12]报道,吐温-80 虽然毒性小,但在胃肠道中可能发生转相反应,因此本文选取 PECEOL 作为油相,Labrasol 为乳化剂,Transcutol HP 为助乳化剂.

表 4 紫杉醇和胡椒碱在各辅料中的溶解度 mg/mL

辅料名称	紫杉醇	胡椒碱
辛酸葵酸甘油三酯	1.93	13.78
大豆油	0.49	10.9
花生油	2.92	8.68
PECEOL	3.66	25.26
Labrasol	17.29	16
吐温-80	8.84	33.23
RH-40	16.10	19.54
Transcutol HP	38.79	71.18
无水乙醇	1.25	5.68
异丙醇	0.87	7.36

3.2 处方辅料比的确定

本实验以文献[13-15]为参考绘制伪三元相图,并标出自乳化区域(图 2).由图 2 可知,在自乳化比例大于助乳化剂比例的条件下,油相在 5%~15% 范围内自乳化效果最好.

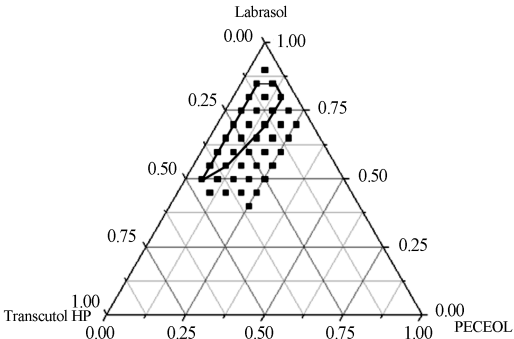


图 2 SEDDS 处方筛选伪三元相图

选择 5% 油相,以乳剂的粒径及电位值为指标,将乳化剂/助乳化剂按 2.5 : 1、2 : 1、1.5 : 1、1 : 1 进行最佳配比筛选,结果表明乳化剂/助乳化剂比例为 1.5 : 1 时最佳,如表 5 所示.固定乳化

剂/助乳化剂比例为 1.5 : 1,以粒径和电位为指标,对 5%和 10%油相的两个 SEDDS 样品进行最佳处方的筛选,结果表明 10%油相最佳,如表 6 所示. 根据以上确定,本实验中紫杉醇 SEDDS 和胡椒碱 SEDDS 的处方为 10%油相(PECEOL)、54%表面活性剂(Labrasol)、36%助表面活性剂(Transcutol HP).

表 5 SEDDS 处方筛选粒径、Zeta 电位测定值

乳/助乳	粒径/nm	Zeta 电位/mV
2.5 : 1	305.90±1.836	-23.10±0.4
2 : 1	247.07±0.902	-20.93±0.586
1.5 : 1	232.40±1.114	-20.50±0.529
1 : 1	353.67±1.172	-23.77±0.503

表 6 SEDDS 处方筛选粒径、Zeta 电位测定值

油相含量	粒径/nm	Zeta 电位/mV
5%	232.40±1.114	-20.5±0.529
10%	193.13±0.797	-22.0±0.985

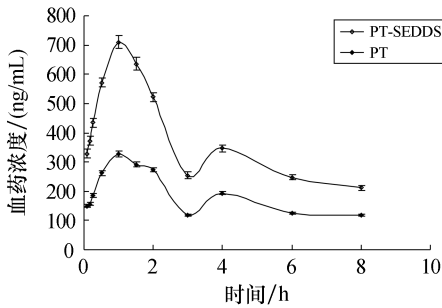
按上述处方,制备紫杉醇 SEDDS 和胡椒碱 SEDDS,粒径和电位值如表 7 所示. 经计算紫杉醇与胡椒碱在该处方中的最大溶解度分别为 23.667 mg/mL 和 36.791 mg/mL.

表 7 紫杉醇 SEDDS 和胡椒碱 SEDDS 粒径、Zeta 电位值

化合物	粒径/nm	Zeta 电位/mV
紫杉醇	232.20±0.436	-18.2±0.361
胡椒碱	239.50±0.265	-17.8±0.361

3.3 紫杉醇混悬液和紫杉醇 SEDDS 单剂量药动学研究

紫杉醇 SEDDS 与紫杉醇混悬液的药时曲线如图 3 所示. 由图 3 可以看出,在相同时间点,紫杉醇 SEDDS 组血药浓度明显高于紫杉醇混悬液组. 比较紫杉醇混悬液组与自乳化系统组的药动学参数,结果如表 8 所示. 表 8 显示,口服紫杉醇 SEDDS 组 C_{max} 增加了 119.51%, AUC 增加了 95.45% ($P<0.01$), T_{max} 和 $t_{1/2}$ 无显著变化.



注: PT-SEDDS 为紫杉醇 SEDDS; PT 为紫杉醇混悬液

图 3 紫杉醇血药浓度与时间的曲线图

表 8 大鼠灌胃给予 PT 或 PTS 后的药动学参数

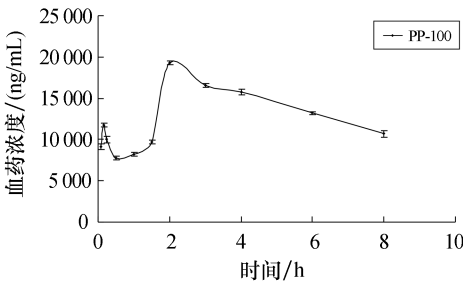
	AUC	C_{max}	Cl/F	V/F	T_{max}	$t_{1/2}$
PT	2 376.9±117.7	328±9.9	0.03±0.001 3	0.20±0.010 6	1.0±0.0	5.5±0.5
PTS	4 645.6±261.8*	710±21.2*	0.01±0.000 7*	0.11±0.007 *	0.9±0.2	5.7±0.7

注:* 表示 $P<0.01$

3.4 胡椒碱对紫杉醇药动学的影响

胡椒碱的药时曲线如图 4 所示. 图 4 表明,胡椒碱在给药 2 h 后血药浓度最大,因此在比较不同剂量胡椒碱 SEDDS 对紫杉醇 SEDDS 生物利用度的影响实验时,选择给予 SD 大鼠胡椒碱 SEDDS 2 h 后口服灌胃给药紫杉醇 SEDDS. 与单剂量口服灌胃给药紫杉醇 SEDDS 相比,将 60 mg/kg 的紫杉醇 SEDDS 分别与 100、50、25 mg/kg 胡椒碱 SEDDS 联合用药后,紫杉醇的 AUC 分别增加了 150.28%、120.03%、34.61%, C_{max} 分别增加了 165.92%、125.92%、39.72%(表 9),紫杉醇单剂量给药和紫杉醇与胡椒碱联合用药后的药动学参

数(AUC 和 C_{max})均具有显著性差异($P<0.01$). 并且变化血药浓度随着胡椒碱计量增大而增大(图 5).



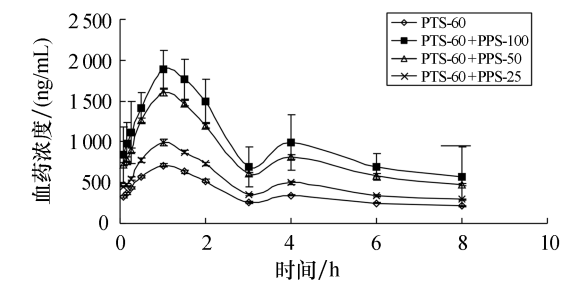
注: PP-100 为口服胡椒碱 SEDDS 100 mg/kg

图 4 胡椒碱血药浓度与时间的曲线图

表 9 大鼠灌胃给予 PP 与 PTS 后的药动学参数

	AUC	C _{max}	Cl/F	V/F	T _{max}	t _{1/2}
PTS	4 645.6±261.8	710±21.2	0.01±0.000 7	0.11±0.007	0.9±0.2	5.7±0.7
PTS+PP-100	11 626.8±915.7*	1 888±46.6*	0.005±0.000 2*	0.04±0.001 7*	1.1±0.4	5.0±0.3
PTS+PP-50	10 221.6±284.6*	1 604±39.7*	0.01±0.000 2*	0.04±0.001 9*	1.2±0.3	5.2±0.2
PTS+PP-25	6 253.6±283.0*	992±37.7*	0.01±0.000 4*	0.07±0.003 1*	1.1±0.2	5.3±0.3

注：* 表示 $P<0.01$



注：PTS 为紫杉醇 SEDDS；PPS 为胡椒碱 SEDDS

图 5 紫杉醇血药浓度与时间的曲线图

4 结论

本文以粒径和 Zeta 电位为指标,采用伪三元相图对紫杉醇和胡椒碱自乳化给药系统进行处方筛选,通过在 SD 大鼠体内进行药动学实验,研究了紫杉醇自乳化给药系统的药代动力学特征,并探讨了胡椒碱对紫杉醇自乳化给药系统口服生物利用度的影响。结果显示,紫杉醇 SEDDS 组比紫杉醇混悬液组 C_{max} 增加了 2.2 倍, AUC 升高了约 2.0 倍($P<0.01$),这表明自乳化给药传递系统能够显著提高紫杉醇口服生物利用度。与单剂量给药相比,将紫杉醇 SEDDS 与不同剂量(100、50 mg/kg 和 25 mg/kg)胡椒碱 SEDDS 联合用药后, C_{max} 分别升高 2.6、2.2、1.3 倍, AUC_{0-inf_obs} 分别升高了约 2.5、2.2、1.4 倍。该结果表明,P-糖蛋白抑制剂与紫杉醇联合应用能显著提高紫杉醇口服生物利用度,该结果为紫杉醇的临床应用提供了新的思路。本文在研究药动学过程中,药浓度与时间曲线出现了双峰现象,其具体原因还需要进一步研究。

参考文献：

[1] Shah N H, Carvajal M T, Patel C I, et al. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolized glycerides for improving in vitro dissolution and oral absorption of lipophilic drugs[J]. Int J Pharm, 1994,106(1):15-23.

[2] Esfahani M K M. Cytotoxicity of liposomal paclitaxel

in breast cancer cell line MCF-7 [J]. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2013,28(4):358-360.

[3] Haller D G, Misset J L. Docetaxel in advanced gastric cancer[J]. Anticancer Drugs, 2002,13(5):451-460.

[4] Szebeni J, Alving C R, Savay S, et al. Formation of complement-activating particles in aqueous solutions of Taxol: possible role in hypersensitivity reactions[J]. Int Immunopharmacol, 2001,1(4):721-735.

[5] 冯立艳,王成,胡明继. 静脉滴注紫杉醇出现过敏性休克 1 例[J]. 中国新药与临床杂志,1999,18(5):309-309.

[6] Kemper E M, van Zandbergen A E, Cleypool C, et al. Increased penetration of paclitaxel into to the brain by in hibition of P-glycoprotein[J]. Clin Cancer Res, 2003,9(7):2849-2855.

[7] Schellens J M, Malingre M M. Modulation of oral bioavaibility of anticancer drugs: from mouse to man[J]. Eur J Pharm Sci, 2000,12(2):103-110.

[8] 李峥,庄笑梅,李素云,等. P-糖蛋白中药抑制剂的 研究进展[J]. 解放军药学报,2009(4):326-329.

[9] 蔡青青. 脂质、P-gp 抑制剂及自微乳化释药系统对 紫杉醇肠淋巴转运的影响研究[D]. 上海:复旦大学,2014.

[10] 周长征. 自微乳化药物传递系统的研究进展[J]. 内 蒙古中医药,2012,31(10):122-122.

[11] Nazzal S, Khan M A. Controlled release of a self-emulaifying formulation from a tablet dosage form: stability assessment and optimization of some processing parameters[J]. Int J Pharm, 2006,315(1/ 2):110-121.

[12] Swenson E S, Milisen W B, Curatolo W. Intestinal permeability enhancement: efficacy, acute local toxicity, and reversibility[J]. Pharmaceutical Research, 1994,11(8):1132-1142.

[13] 杨蒙蒙,张琰,刘新友,等. 中药挥发油微乳与伪三 元相图的研究[J]. 中药材,2011(8):1288-1292.

[14] Moreno M A, Ballesteros M P, Frutos P. Leci- thin-based oil-in-water microemulsions for paren- teral use: pseudotrinary phase diagrams, character- ization and toxicity studies[J]. J Pharm Sci, 2003, 92(7):1428-1437.

[15] Pons R, Carrera I, Caelles J, et al. Formation and properties of miniemulsions formed by microemul- sions dilution[J]. Adv Colloid Interface Sci, 2003, 106(12):129-146.