

淫羊藿苷元自微乳在 Caco-2 细胞模型的肠吸收特性初步研究

王晋艳^{1,2}, 陈彦^{1,2*}, 张振海¹, 贾东升^{1,2}, 贾晓斌^{1,2}

1. 江苏省中医药研究院 中药新型给药系统重点实验室, 国家中医药管理局中药释药系统重点研究室, 江苏 南京 210028

2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013

摘要: **目的** 制备淫羊藿苷元自微乳, 考察其理化性质及体外肠吸收特性。 **方法** 在考察淫羊藿苷元理化性质的基础上, 以油酸乙酯为油相, 聚山梨酯 80 为乳化剂, 丙三醇为助乳化剂制备淫羊藿苷元自微乳, 采用透射电镜及激光粒度分析仪测定其稀释后所得微乳的形态、粒径分布和 Zeta 电位, 并采用 Caco-2 细胞模型初步分析其肠吸收特性。 **结果** 所制备的淫羊藿苷元自微乳稀释后, 微乳平均粒径为 55.6 nm, Zeta 电位为 -30.8 mV, 在 Caco-2 细胞模型上的表观渗透系数 (P_{app}) 为 $(3.52 \pm 0.3) \times 10^{-6}$ cm/s。 **结论** 淫羊藿苷元自微乳制剂稳定, 体外研究显示自微乳系统能够促进淫羊藿苷元在肠道的吸收。 **关键词:** 淫羊藿苷元; 自微乳; 肠吸收; Caco-2 细胞; 表观渗透系数

中图分类号: R283.6; 285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)03-0476-06

Absorption characteristics in intestine of icaritin self-microemulsion via Caco-2 monolayer model

WANG Jin-yan^{1,2}, CHEN Yan^{1,2}, ZHANG Zhen-hai¹, JIA Dong-sheng^{1,2}, JIA Xiao-bin^{1,2}

1. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. College of Pharmaceutics, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Abstract: **Objective** To prepare icaritin self-microemulsion and investigate its properties and oral absorption characteristics in Caco-2 monolayer model. **Methods** To prepare icaritin self-microemulsion with ethyl oleate as oil phase, Polysorbate-80 as surfactant, and glycerol as cosurfactant. The appearance, particle diameter distribution, and Zeta potential of the diluted icaritin self-microemulsion were investigated by transmission electron microscopy and laser grain size analyzer, and the intestinal absorption was studied by using Caco-2 monolayer model. **Results** The mean particle diameter distribution of the diluted icaritin self-microemulsion was 55.6 nm, with Zeta potential of -30.8 mV. The apparent permeability coefficient (P_{app}) of the diluted microemulsion in Caco-2 monolayer model was $(3.52 \pm 0.3) \times 10^{-6}$ cm/s. **Conclusion** The icaritin self-microemulsion is stable and could significantly improve the absorption of icaritin in the intestinal tract.

Key words: icaritin; self-microemulsion; intestinal absorption; Caco-2 cell; apparent permeability coefficient (P_{app})

淫羊藿 *Epimedii Folium* 作为传统的补益中药, 具有补肝肾、强筋骨、祛风湿的作用, 其化学成分独特, 生物活性显著, 一直是国内外研究的热点之一。目前关于淫羊藿的研究很多, 尤其在化学成分和药理作用方面研究较深入^[1-3]。研究表明淫羊藿中的黄酮类成分是其发挥抗骨质疏松作用的主要活性成分^[4], 而淫羊藿黄酮苷进入体内后被代谢为糖和苷元, 苷元的药理活性更强^[5]。但是, 淫羊藿苷元水溶性很差, 口服很难吸收。自微乳给药系统是难

溶性药物的优良载体, 可显著提高药物的口服生物利用度^[6-9]。因此, 为了提高淫羊藿苷元口服吸收效果, 增强其抗骨质疏松疗效, 本实验将淫羊藿苷元制备成自微乳制剂, 采用 Caco-2 细胞模型^[10]预测其肠道的吸收情况, 并对淫羊藿自微乳的吸收机制进行初步探讨。

1 仪器与材料

Caco-2 TC7 细胞株, 由法国 Moniqué Rousset 博士馈赠。

收稿日期: 2011-08-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81173557); 江苏省中医药领军人才项目 (LJ200913); 江苏省中医药局资助项目 (LZ09063)

作者简介: 王晋艳 (1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物药剂学。Tel: 15189102196 E-mail: wwind924@yahoo.com.cn

*通讯作者 陈彦 Tel: (025)85608672 E-mail: ychen202@hotmail.com

聚山梨酯 20 (天津科密欧化学试剂有限公司); 聚山梨酯 80、丙三醇、聚乙二醇 400 (PEG 400)、肉豆蔻酸异丙酯 (IPM) 国药集团化学试剂有限公司, 聚氧乙烯辛基苯基醚 (OP 乳化剂, 上海玖意化学试剂有限公司), 1, 2-丙二醇 (苏州正兴化工研究院), 油酸 (上海实意化学试剂有限公司), 油酸乙酯 (上海飞祥化工厂), DMEM 培养基 (Hyclone 公司); 胎牛血清 (FBS, Equitech-Bio Inc. 公司); 非必需氨基酸 (JRH 公司); 谷氨酰胺、胰蛋白酶 (Sigma 公司); 淫羊藿苷元 (自制, 质量分数 > 98%); 乙腈、三乙胺、甲酸均为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

激光粒度分析仪 (Zetastzer 23000HSA 型, 英国 Malvern 公司); H27650 型透射电子显微镜 (日本 Hitach 公司); 二氧化碳培养箱 (德国 Hearous); 超高压液相色谱仪 Waters Acquity™ (美国 Waters); Millicell-ERS 跨膜电阻仪、Milli-Q 纯水机 (美国 Millipore); Transwell 培养板 (丹麦 Nunc); 高速冷冻离心机 (美国 Beckman)。

2 方法与结果

2.1 淫羊藿苷元理化性质的研究

为制备淫羊藿苷元自微乳, 首先对淫羊藿苷元的理化性质进行研究, 为适宜剂型的设计提供实验基础。

2.1.1 淫羊藿苷元平衡溶解度测定^[11-12]

(1) 淫羊藿苷元在常用有机溶剂中平衡溶解度的测定 取过量淫羊藿苷元于具塞玻璃试管中, 分别加二甲基亚砜 (DMSO)、乙醇、甲醇、正辛醇、丙酮、醋酸乙酯、氯仿、二氯甲烷、乙醚及石油醚适量, 超声 10 min, 放入恒温振荡器中, 温度保持 (37±1) °C 振摇 24 h, 测定淫羊藿苷元平衡溶解度。结果 (表 1) 表明淫羊藿苷元溶解性较差, 微溶于乙醇等有机溶剂, 其在有机溶剂中的平衡溶解度大小依次为 DMSO>乙醇>甲醇>正辛醇>丙酮>醋酸乙酯>氯仿>二氯甲烷>乙醚>石油醚。

(2) 淫羊藿苷元在水及不同 pH 值的平衡盐溶液中的溶解度 取过量淫羊藿苷元于具塞玻璃试管中, 分别加入水和 pH 2.0、2.5、5.0、5.8、6.5、7.0、7.4、8.0 的 PBS 溶液, 超声至淫羊藿苷元不再溶解, 放入恒温振荡器中, 温度保持 (37±1) °C, 振摇 24 h, 测定淫羊藿苷元的溶解度。结果 (表 2) 淫羊藿苷元在水中的平衡溶解度为 (6.8±0.03) mg/L。在 PBS 体系中的平衡溶解度随 pH 值增大, 淫羊藿

表1 淫羊藿苷元在不同有机溶剂中的平衡溶解度

Table 1 Equilibrium solubilities of icaritin in different organic solvents

溶 剂	溶解度 / (g·L ⁻¹)	溶解状态	溶 剂	溶解度 / (g·L ⁻¹)	溶解状态
DMSO	35.68	溶解	醋酸乙酯	3.99	微溶
乙醇	7.59	微溶	氯仿	2.76	微溶
甲醇	7.33	微溶	二氯甲烷	0.39	极微溶
正辛醇	6.34	微溶	乙醚	0.15	极微溶
丙酮	4.11	微溶	石油醚	0.00	不溶

表2 淫羊藿苷元在不同pH值的PBS体系中的平衡溶解度

Table 2 Equilibrium solubilities of icaritin in PBS with different pH values

pH	溶解度 / (g·L ⁻¹)	pH	溶解度 / (g·L ⁻¹)
2.0	4.3	6.5	5.9
2.5	4.5	7.0	8.6
5.0	4.9	7.4	10.2
5.8	5.0	8.0	28.3

苷元平衡溶解度增大。

2.1.2 油水分分配系数的预测 在预试验中, 采用摇瓶法结合液相色谱测定淫羊藿苷元的油水分分配系数, 两相分离平衡后未能在两相中检测到淫羊藿苷元。

通过 Advanced Chemistry Development, Inc. 公司预测软件, 使用 ACD/Chem. Sketch 12.01 提供的 logP 插件功能读取化合物的二维结构式预测淫羊藿苷元的分配系数, 结果淫羊藿苷元的 logP 为 4.84±0.97, 表明淫羊藿苷元的膜渗透性较差。

2.2 淫羊藿苷元自微乳的制备

2.2.1 表面活性剂对淫羊藿苷元增溶作用的考察 配制质量浓度为 1、2、5、10、20、30 g/L 的聚山梨酯 80、聚山梨酯 20、OP 乳化剂水溶液。取过量淫羊藿苷元于具塞玻璃试管中分别加入上述介质适量, 超声至淫羊藿苷元不再溶解, 放入恒温振荡器中, 温度保持 (37±1) °C, 振摇 24 h。结果表面活性剂对淫羊藿苷元增溶作用强弱依次为: 聚山梨酯 80>聚山梨酯 20>OP 乳化剂, 聚山梨酯 80 对淫羊藿苷元的增溶作用最好, 溶解度达 37.35 mg/L (含 3%聚山梨酯 80 的水溶液)。见图 1。

2.2.2 自微乳的制备 根据上述试验结果选择聚山梨酯 80 为乳化剂, 分别以 IPM、油酸、油酸乙酯为油相, 以 1, 2-丙二醇、丙三醇、PEG 400 为助乳

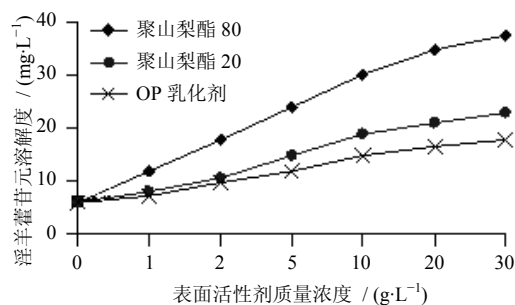


图 1 表面活性剂对淫羊藿苷元增溶作用的考察

Fig. 1 Solubilization of surfactants on icaritin

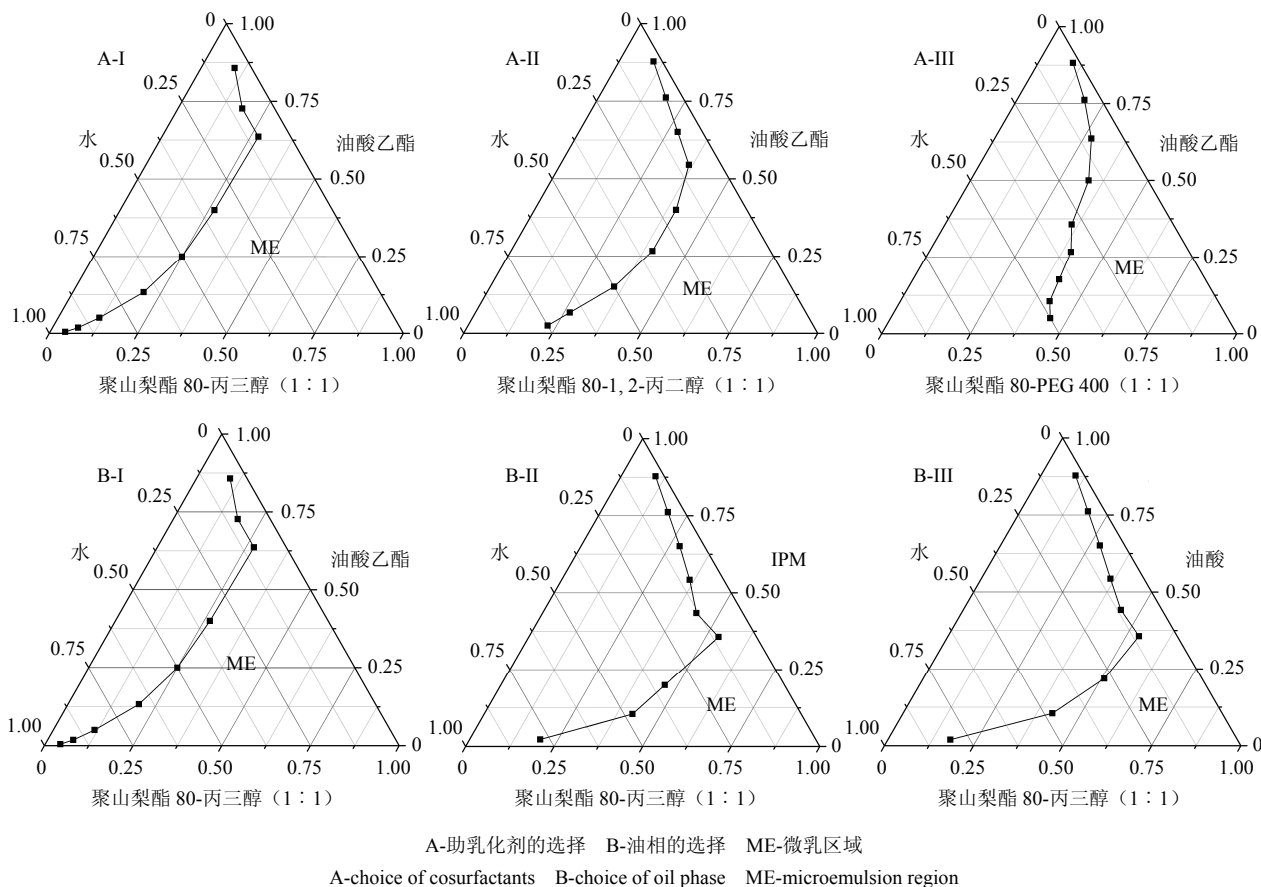


图 2 微乳体系的伪三元相图

Fig. 2 Ternary phase diagrams of microemulsion system

响, 结果油酸乙酯体系的微乳区域最大, 因此选择聚山梨酯 80-丙三醇-油酸乙酯体系。按筛选出的最佳条件制备淫羊藿苷元自微乳: 取 180 mg 聚山梨酯 80, 180 mg 丙三醇, 40 mg 油酸乙酯置于容器中, 搅拌均匀, 加入 1 mg 淫羊藿苷元, 涡旋振荡至完全溶解, 得质量浓度为 0.25% 的淫羊藿苷元自微乳。

2.3 淫羊藿苷元自微乳理化性质测定

用透射电镜观察淫羊藿苷元自微乳加水稀释成微乳的外观形态, 透射电镜下淫羊藿苷元稀释微乳乳滴呈圆球形, 大小均匀无粘连。

化剂, 采用加油滴定法观察微乳的形成。将乳化剂分别与不同的助乳化剂按 1:1 混合溶解, 在 25 °C 下加入水相, 用恒温磁力搅拌器搅拌, 搅拌下用油相滴定, 以外观澄清透明为指标判断滴定终点, 记录临界加油量, 按油、水、混合乳化剂在临界点的质量分数, 绘制伪三元相图 (图 2), 以确定微乳区。3 种助乳化剂形成微乳区域大小依次为丙三醇 > 1,2-丙二醇 > PEG 400; 以聚山梨酯 80 为乳化剂、丙三醇为助乳化剂, 考察 3 种油相对微乳形成的影

取淫羊藿苷元稀释微乳, 用激光粒度分析仪测定其粒径分布及 Zeta 电位, 结果表明, 淫羊藿苷元自微乳稀释后所得微乳平均粒径为 55.6 nm, 多分散系数为 0.25, Zeta 电位 -30.8 mV, 分布均匀。

2.4 淫羊藿苷元自微乳体外肠吸收研究

2.4.1 淫羊藿苷元自微乳的吸收转运实验^[13] 细胞培养: Caco-2 细胞培养于 DMEM 培养液中, 含胎牛血清 (FBS) 10%, 非必需氨基酸 (NEAA) 1%, 谷氨酰胺 (L-glutamine) 1%, 青霉素 (100 U/mL) - 链霉素 (100 μg/mL) 双抗液, 在 37 °C 的 5% CO₂

恒温培养箱中培养。隔天换 1 次培养液，每 5~7 d 用胰蛋白酶消化传代。将 Caco-2 细胞混悬液种植于 Transwell 中，细胞种植密度为 25×10^6 个/cm²，单层细胞于 19~21 d 分化形成，用跨膜电阻仪检测跨膜电阻，各孔跨膜电阻值均大于空白对照值 100 Ω /4.2 cm² 以上，符合试验要求。

将淫羊藿苷元自微乳用 Hank's 平衡盐溶液稀释至浓度为 10 μ mol/L 作为样品溶液，空白的 Hank's 平衡盐溶液作为接收液，加到 Transwell 中置于转速为 50 r/min 的 37 $^{\circ}$ C 恒温摇床中，分别在 1、2、3、4 h 时吸取供给池、接收池溶液各 400 μ L，同时补足相应的溶液。测定各收集液中淫羊藿苷元的量。

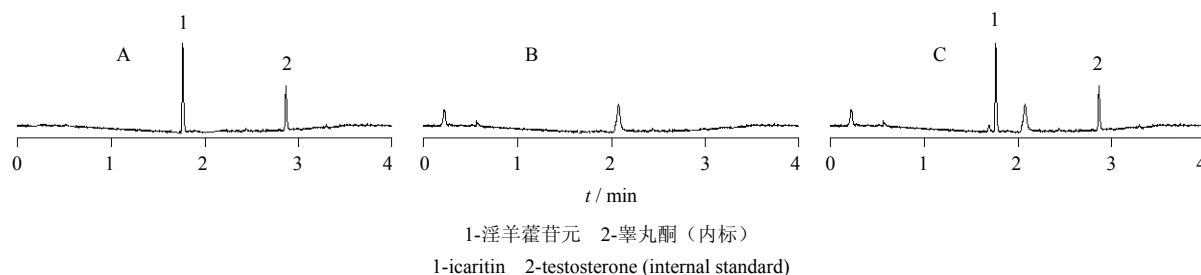


图 3 淫羊藿苷元对照品+内标 (A)、阴性对照 (B) 和自微乳稀释液经过 Caco-2 细胞单层后 (C) 的超高压液相色谱图
Fig. 3 UPLC chromatograms of icaritin reference substance + internal standard (A), negative control (B), and diluted icaritin self-microemulsion via Caco-2 cell monolayer (C)

7.37 mg，置于 10 mL 量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，制成 2.0 mmol/L 的淫羊藿苷元储备液。精密量取储备液适量分别配制成不同浓度的淫羊藿苷元对照品溶液，结果表明在 0.312 5~40 μ mol/L 淫羊藿苷元和内标睾酮峰面积的比值 (Y) 与淫羊藿苷元的浓度 (X) 呈良好的线性关系，回归方程为 $Y=0.0317 X-0.005 1$ ， $r=0.999 9$ 。日间、日内精密度的 RSD 均 <2% ($n=6$)，重现性 RSD 为 0.93% ($n=6$)，24 h 稳定性 RSD 为 0.25%，平均回收率为 (99.52 $\pm$ 0.35)% ($n=6$)。

将所收集的样品立刻加入 100 μ L 睾酮 (100 μ mol/L) 内标溶液，于离心机中离心 15 min (13 000 r/min)，以上述色谱条件用超高压液相色谱仪进行分析。

2.4.4 数据分析 Caco-2 细胞模型表观渗透系数 (P_{app}) 的计算^[14]：

$$P_{app} = (dQ/dt) / SC$$

dQ/dt 为接收池药物出现的速率 (cm/s)， S 为膜面积 (4.2 cm²)， C 为药物的初始浓度 (μ mol/L)。

P_{app} 值越大，通透率越高。用 t 检验对两组数据进行比较处理，结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2.4.2 超高压液相样品分析 色谱条件：Acquity UPLCTM BEH C₁₈ 柱 (50 mm $\times$ 2.1 mm，1.7 μ m)；流动相：以 A 相 (90% 的三乙胺-甲酸缓冲溶液 pH 3.0，10% 的乙腈) 和 B 相 (90% 的乙腈水溶液) 进行梯度洗脱：0~0.3 min，100% A；0.3~2.9 min，100%~25% A；2.9~3.2 min，25%~0% A；3.2~3.5 min，0% A；体积流量 0.75 mL/min，检测波长 268 nm，柱温 45 $^{\circ}$ C，样品温度 20 $^{\circ}$ C，在此条件下淫羊藿苷元有较好分离。淫羊藿苷元的保留时间为 1.75 min，睾酮 (内标溶液) 的保留时间为 2.81 min，内标检测波长为 245 nm。色谱图见图 3。

2.4.3 方法学验证 精密称取淫羊藿苷元对照品

淫羊藿苷元稀释微乳渗透系数测定结果分别为 $P_{app(AP \rightarrow BL)}$ 为 $(3.52 \pm 0.3) \times 10^{-6}$ cm/s， $P_{app(BL \rightarrow AP)}$ 为 $(0.35 \pm 0.02) \times 10^{-6}$ cm/s，从 AP 侧到 BL 侧及从 BL 侧到 AP 侧转运量随时间的变化见图 4。实验表明，10 μ mol/L 淫羊藿苷元稀释微乳从 AP 侧到 BL 侧的转运量以及从 BL 侧到 AP 侧转运量在 4 h 内都随着时间的增加而呈线性增长，淫羊藿苷元稀释微乳 AP 到 BL 侧的渗透系数 $P_{app(AP \rightarrow BL)}$ 是 BL 到 AP 侧渗透系数 $P_{app(BL \rightarrow AP)}$ 的 10.06 倍。

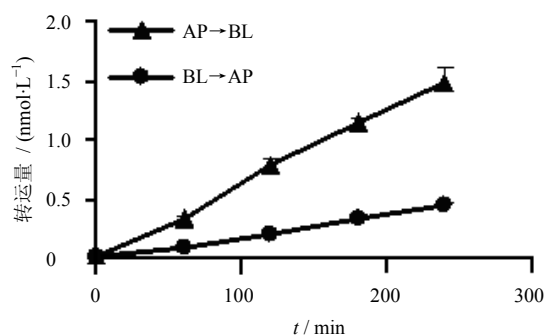


图 4 淫羊藿苷元稀释微乳 1~4 h 跨膜转运量
Fig. 4 Transmembrane transport of diluted icaritin self-microemulsion during 1—4 h

3 讨论

本实验研究了淫羊藿苷元的理化性质:平衡溶解度和油水分配系数,发现淫羊藿苷元在水中溶解度较小,油水分配系数($\log P$)经软件预测为 4.84 ± 0.97 。研究表明^[15] P 值过低($\log P < -2$),化合物亲脂性不强,不能穿过细胞膜;另一方面, P 值过高($\log P > 3$),化合物亲脂性强、水溶性低而不能与脂质膜充分接触,所以吸收更加困难。实验结果表明淫羊藿苷元为难溶性药物,具有较差的膜渗透性。通过以上理化性质的研究,为淫羊藿苷元剂型设计为自微乳提供了实验依据。

自微乳具有提高难溶性药物溶解度、生物利用度以及降低胃肠道副作用等优势^[16]。本实验制备了淫羊藿苷元自微乳,并考察了其稀释后微乳在不同pH值的HBSS中稳定性,结果表明淫羊藿苷元稀释微乳在24 h内稳定(数据未给出)。在此基础上,进一步采用Caco-2细胞模型初步研究了淫羊藿苷元自微乳吸收机制,结果淫羊藿苷元自微乳稀释后所得微乳的吸收渗透系数为 $(3.52 \pm 0.3) \times 10^{-6}$ cm/s,由于淫羊藿苷元溶解度低,即使加入1%的增溶剂DMSO,也无法溶解于HBSS溶液中达到10 μ mol/L的浓度,因此无法比较制剂与原药的吸收差异,但文献报道^[17]表观渗透系数大于 1×10^{-6} cm/s的药物表明吸收良好,而淫羊藿苷元自微乳的吸收渗透系数大于 1×10^{-6} cm/s,表明所制备的自微乳能够明显促进淫羊藿苷元的吸收。

文献报道大多黄酮类药物药理作用明显,但口服吸收均较差。其主要原因为其渗透性较差,存在外排转运载体的作用。本课题组前期也对淫羊藿黄酮的吸收机制进行了深入研究,认为淫羊藿中的主要活性黄酮:淫羊藿苷,朝藿定A、B、C,宝藿苷的吸收较差与P-gp、MRP、BCRP等肠道的外排转运载体的外排有关^[18-21]。文献报道表面活性剂聚山梨酯-80对P-gp的外排有一定的抑制作用^[22],可以降低药物外排几率,增加药物的吸收。同时,微乳由于表面张力较低,易于透过细胞壁的水化层,能够使药物直接与胃肠上皮细胞接触,从而促进药物的吸收^[23]。文献报道蔡普生自微乳并不能显著增加其吸收渗透系数,而是通过破坏细胞间的紧密连接,显著降低细胞的跨膜电阻,使蔡普生的吸收有一定的增加^[24]。然而,本实验中淫羊藿苷元自微乳的吸收渗透系数 $P_{app(AP \rightarrow BL)}$ 是其分泌渗透系数 $P_{app(BL \rightarrow AP)}$ 的10倍,对于自微乳如此之大的促进吸

收作用,其机制尚不清楚。因此,淫羊藿苷元自微乳的促吸收机制还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 王 静, 李建平, 张跃文, 等. 淫羊藿药理学研究进展[J]. 中国药业, 2009, 18(8): 60-61.
- [2] 郭 青, 吴晓燕, 宁 青, 等. 淫羊藿茎叶中5种黄酮类成分分析及质量评价[J]. 中草药, 2011, 42(10): 2028-2032.
- [3] 蒋凌云, 刘光明, 陈可欣. 淫羊藿苷的提取分离和抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(5): 353-358.
- [4] 王 婷, 张大威, 张金超, 等. 淫羊藿黄酮的分离鉴定及其对前破骨细胞株增殖的影响[J]. 中草药, 2006, 37(10): 1458-1462.
- [5] 贾晓斌, 贾东升, 施 峰, 等. 环淫羊藿苷元微乳的制备及肠吸收研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(4): 435-438.
- [6] 姚 静, 卢 韵, 周建平, 等. 川陈皮素自微乳的制备及其大鼠在体肠吸收动力学[J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(1): 35-38.
- [7] 陈小新, 原 素, 谢称石, 等. 葛根素自微乳给药系统的制备及其质量评价[J]. 中草药, 2011, 42(8): 1512-1516.
- [8] 肖 璐, 易 涛, 刘 颖, 等. 银杏叶总黄酮自微乳化口腔速溶膜的制备及其性质研究[J]. 中草药, 2011, 42(8): 1517-1522.
- [9] 姚金娜, 陈苹苹, 尚小广, 等. 水飞蓟宾过饱和自微乳给药系统在大鼠体内的药动学研究[J]. 中草药, 2011, 42(11): 2261-2264.
- [10] 朱容慧, 赵军宁, 毕岳琦, 等. 中药肠吸收动力学研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(1): 25-29.
- [11] 张婷婷, 徐 文, 胡生亮, 等. 水飞蓟宾在不同介质中平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(20): 1569-1571.
- [12] 徐 文, 孙 进, 张婷婷, 等. HPLC法测定冬凌草甲素的平衡溶解度和表观油水分配系数[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(4): 220-222.
- [13] Chen J, Lin H M, Hu M. Absorption and metabolism of genistein and its five isoflavone analogs in the human intestinal Caco-2 model[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 55(2): 159-169.
- [14] Artursson P, Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 175(3): 880-885.
- [15] Abraham D J. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery* [M]. New Zealand: John Wiley & Sons Inc.,

- 2003.
- [16] 周晓堂, 王 晶, 王 颖, 等. 吡罗昔康自微乳化药物传递系统的处方筛选与体外评价 [J]. 药学学报, 2008, 43(4): 415-420.
- [17] 王海玲, 刘 宁, 刘志强, 等. 利用 Caco-2 细胞模型模拟槲皮素和芦丁在小肠的吸收 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2007, 33(1): 33-36.
- [18] 陈 彦, 贾晓斌, 胡 明, 等. 淫羊藿苷在 Caco-2 细胞单层模型中的吸收机制 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(10): 1164-1167.
- [19] 陈 彦, 贾晓斌, HU M. Caco-2 细胞单层研究淫羊藿黄酮类成分的吸收转运 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 220-224.
- [20] Chen Y, Zhao Y H, Jia X B, *et al.* Intestinal absorption mechanisms of prenylated flavonoids present in the heat-processed *Epimedium koreanum* Nakai (Yin Yanghuo) [J]. *Pharm Res*, 2008, 25(9): 2190-2199.
- [21] 赵艳红, 贾晓斌, 陈 彦, 等. 淫羊藿黄酮类化合物的大鼠在体肠吸收研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(3): 188-191.
- [22] 王 春, 魏 伟, 杨昭毅, 等. 芍药苷微乳溶液在大鼠在体肠的吸收动力学研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(2): 181-185.
- [23] 叶海英, 张忠义, 高 申, 等. 法莫替丁微乳的研制及其质量评价 [J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(1): 68-70.
- [24] Buyukozturk F, Benneyan J C, Carrier R L. Impact of emulsion-based drug delivery systems on intestinal permeability and drug release kinetics [J]. *J Controlled Release*, 2010, 142(1): 22-30.