

白藜芦醇-羟丙基-β-环糊精-壳聚糖缓释微球的制备及表征^Δ

张纯刚^{1*}, 于琛琛¹, 周旖璇¹, 尹丽¹, 程岚^{1#}, 康廷国¹, 韩岚² (1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116620; 2. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)17-2322-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.04

摘要 目的:制备白藜芦醇(RES)-羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD)-壳聚糖缓释微球(RES-HP-β-CD-Chitosan),并进行表征。方法:按质量比1:7:0.25称取RES原料药、HP-β-CD和壳聚糖,先采用溶剂法制备RES-HP-β-CD包合物,在此基础上加入壳聚糖,采用喷雾干燥法制得RES-HP-β-CD-Chitosan。采用光学显微镜观察所制缓释微球的粒径。采用X射线衍射法、差式扫描量热法、红外光谱法、扫描电子显微镜对所制RES-HP-β-CD-Chitosan进行表征。采用紫外分光光度法测定所制缓释微球中RES的含量,计算载药量和包封率。结果:所制RES-HP-β-CD-Chitosan的粒径为(2.23±0.35) μm(n=300),表征结果显示,RES-HP-β-CD-Chitosan呈球形,微球表面出现收缩褶皱,RES被包合于羟丙基-β-环糊精中,以分子状态或无定型状态存在。RES-HP-β-CD-Chitosan的载药量为11.67%(n=3)、包封率为96.27%(n=3)。结论:成功制得RES-HP-β-CD-Chitosan。

关键词 白藜芦醇;羟丙基-β-环糊精;壳聚糖;制备;表征

Preparation and Quality Evaluation of Resveratrol-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin-Chitosan Sustained-release Pellets

ZHANG Chungang¹, YU Chenchen¹, ZHOU Yixuan¹, YIN Li¹, CHENG Lan¹, KANG Tingguo¹, HAN Lan² (1. School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Liaoning Dalian 116620, China; 2. School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

软科学,2019(1):3-5.

[10] 马婧,徐爱军.药品地市带量采购模式研究进展与福建省各市药品采购模式分析[J].中国药房,2018,29(11):1458-1462.

[11] 联合采购办公室.关于公布4+7城市药品集中采购中选结果的通知[EB/OL].(2018-12-17)[2019-03-24].<http://www.smpaa.cn/gjsdcg/2018/12/17/8580.shtml>.

[12] 国家医疗保障局.关于国家组织药品集中采购试点答记者问[EB/OL].(2018-12-08)[2019-03-24].http://www.nhsa.gov.cn/art/2018/12/8/art_21_857.html.

[13] 国家医疗保障局.国家医疗保障局关于国家组织药品集中采购和使用试点医保配套措施的意见[EB/OL].(2019-03-05)[2019-03-24].http://www.nhsa.gov.cn/art/2019/3/5/art_37_952.html.

[14] 李欣怡.基于委托代理理论下的医患关系分析[J].合作经济与科技,2014,8(16):89-90.

[15] 师璐,林政,曾志嵘.医患关系中的委托代理问题初探[J].中国医学伦理学,2017,30(3):343-347.

[16] 杨华.工业企业存货周转天数的计算与分析[J].会计师,2013(1):25-26.

[17] 吴克林.工业企业存货周转期分析与评价[J].当代经济,2018,14(7):82-83.

[18] 国家统计局.中国统计年鉴2018[EB/OL].(2018-09-01)[2019-03-24].<http://www.stats.gov.cn/tjsj/ndsj/2018/index.htm>.

[19] 国家统计局.中国统计年鉴2017[EB/OL].(2017-09-01)[2019-03-24].<http://www.stats.gov.cn/tjsj/ndsj/2017/index.htm>.

[20] 国务院国资委考核分配局.企业绩效评价标准值[M].北京:经济科学出版社,2017:88-269.

[21] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:248.

[22] WHO. DDD definition and general considerations[EB/OL].(2018-02-07)[2019-03-24].https://www.whooc.no/ddd/definition_and_general_considera/. (收稿日期:2019-03-26 修回日期:2019-06-24) (编辑:刘明伟)

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81503257);国家重点研发计划课题(No.2018YFC1706903);辽宁省博士科研启动基金计划立项项目(No.201501098)

* 副教授,博士。研究方向:中药新剂型、新技术及体内药物分析。电话:0411-85890145。E-mail:gaogaoii123@163.com

通信作者:教授,博士。研究方向:中药新剂型、新技术及体内药物分析。电话:0411-85890145。E-mail:150067684@qq.com

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Resveratrol-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-chitosan sustained-release pellets (RES-HP- β -CD-Chitosan), and to characterize it. METHODS: Resveratrol raw material, HP- β -cyclodextrin and chitosan were collected with ratio of 1 : 7 : 0.25. Resveratrol-HP- β -cyclodextrin inclusion compound were prepared by solvent method, and then added into chitosan, RES-HP- β -CD-Chitosan were prepared by spray drying method. Particle size of prepared sustained-released pellets were observed by optical microscope. X-ray, DSC, IR and SEM were used to characterize RES-HP- β -CD-Chitosan. The contents of resveratrol in prepared sustained-released pellets were determined by UV spectrum, and drug-loading amount and encapsulation efficiency were calculated. RESULTS: Particle size of prepared RES-HP- β -CD-Chitosan was $(2.23 \pm 0.35) \mu\text{m}$ ($n=300$). Characterization results show that RES-HP- β -CD-Chitosan was spherical in shape; shrinkage was found on the surface of microspheres, and resveratrol was included in HP- β -cyclodextrin in molecule or amorphous state. Drug-loading amount of prepared RES-HP- β -CD-Chitosan was 11.67% ($n=3$), encapsulation efficiency was 96.27% ($n=3$). CONCLUSIONS: RES-HP- β -CD-Chitosan is prepared successfully.

KEYWORDS Resveratrol; Hydroxypropyl- β -cyclodextrin; Chitosan; Preparation; Characterization

白藜芦醇(Resveratrol, RES)属于非黄酮类多酚化合物,具有顺、反两种异构体,其反式异构体的生物活性更强^[1],其主要存在于虎杖、花生、葡萄、桑椹等植物中,药理作用广泛,包括抗氧化、抗炎、抗癌、心血管保护等,具有巨大的开发研究价值^[2-6]。但是由于RES的水溶性差^[7],且具有光敏性^[8],及对酸碱度敏感^[9],同时在体内代谢迅速^[10],致使口服生物利用度不足1%^[11],严重影响其临床应用。

环糊精是一类重要的高分子材料,通过与药物形成包合物结构而实现提高难溶性药物溶解性、增强药物稳定性、改善药物生物利用度等目的^[12]。经改性后的羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)与天然的 β -环糊精相比,HP- β -CD水溶性大幅度提高,并具有更高的安全性^[13]。壳聚糖是自然界存在的一种碱性氨基多糖,具有生物相容性和生物黏附性,可以延长药物在体内的滞留时间和释放时间,增加机体对药物的吸收^[14]。

为了提高RES的溶解性,本文采用溶剂法制备RES-HP- β -CD包合物(RES-HP- β -CD),在此基础上加入壳聚糖,制备成RES-HP- β -CD-壳聚糖缓释微球(RES-HP- β -CD-Chitosan),并对所制缓释微球进行质量评价,以期为RES新制剂的开发及应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

FA1004 精密电子天平(天津天马衡基仪器有限公司);LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);UV1600 紫外分光光度计(上海美普达仪器有限公司);Bioq-8000 喷雾干燥仪[汇和堂生物工程设备(上海)有限公司];BA300 光学显微镜(加拿大Motic公司);JSM-7800F 扫描电子显微镜(日本Jeol公司);ESCALAB 250X 射线衍射仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);FTIR-850 红外光谱仪(天津港东科技股份有限公司)。

1.2 药品与试剂

RES原料药(武汉远成共创科技有限公司,批号:20171225,纯度:98%);RES对照品(南京森贝伽生物科技有限公司,批号:111535-201502,纯度:98%);HP- β -CD(山东滨州智源生物科技有限公司,批号:20171201);壳聚糖(潍坊海之源生物制品有限公司,批号:160815A);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 缓释微球的制备

2.1.1 RES-HP- β -CD的制备 精密称取RES原料药与HP- β -CD,质量比为1:7,先将HP- β -CD溶于适量乙醇中,然后将RES原料药加入其中,搅拌下使之溶解,并在室温下挥干乙醇,即得RES-HP- β -CD。

2.1.2 RES-HP- β -CD-Chitosan的制备 精密称取壳聚糖溶于1%醋酸中,将RES-HP- β -CD分散加入到上述溶液中,搅拌,采用喷雾干燥法制备RES-HP- β -CD-Chitosan,其中RES/HP- β -CD/壳聚糖的质量比为1:7:0.25。喷雾干燥工艺参数:进口温度130℃,出口温度75℃,进料速度5 mL/min,雾化气流速8.8 L/min。

2.2 表征

2.2.1 粒径 采用的BA300光学显微镜直接观察RES-HP- β -CD-Chitosan的粒径,记录大约300粒缓释微球的直径,通过计算平均值得到缓释微球的粒径。结果,RES-HP- β -CD-Chitosan的粒径为 $(2.23 \pm 0.35) \mu\text{m}$ ($n=300$)。

2.2.2 X射线衍射法 使用ESCALAB 250 X射线衍射仪分别对RES原料药、HP- β -CD、壳聚糖、RES-HP- β -CD及其处方量的物理混合物、RES-HP- β -CD-Chitosan及其处方量的物理混合物进行扫描,2 θ 范围为4°~60°。X射线衍射分析图见图1。

由图1显示,RES为典型的晶体化合物,其在4°~60°范围内存在明显的晶体衍射峰,而HP- β -CD、壳聚糖在此范围内无衍射峰,为无定形化合物。在两个物理混合物中,RES的晶体衍射峰明显,说明RES以晶体的形

式存在。而在RES-HP- β -CD和RES-HP- β -CD-Chitosan中,并未发现RES的晶体衍射峰,提示RES被包合于HP- β -CD中。

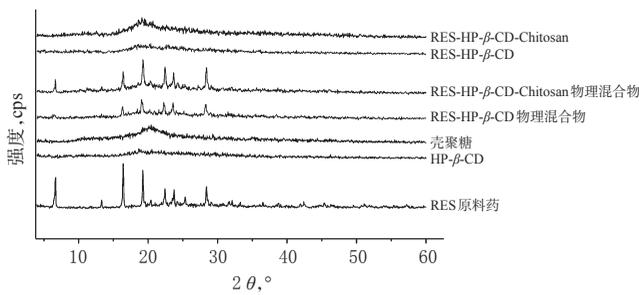


图1 X射线衍射分析图

Fig 1 X-ray diffraction analysis

2.2.3 差示扫描量热法 采用差示扫描量热法分别对RES原料药、HP- β -CD、壳聚糖、RES-HP- β -CD及其处方量的物理混合物、RES-HP- β -CD-Chitosan及其处方量的物理混合物进行检测,置于铝制坩埚中,以空坩埚作为参考池,升温速度为10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,扫描范围为30~300 $^{\circ}\text{C}$ 。差示扫描量热分析图见图2。

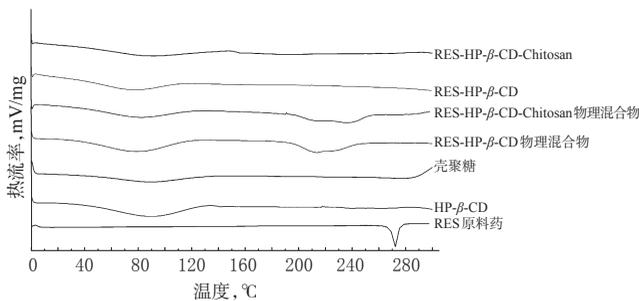


图2 差示扫描量热分析图

Fig 2 DSC analysis

由图2显示,RES玻璃转化温度(T_g)为181 $^{\circ}\text{C}$ ^[1],在272 $^{\circ}\text{C}$ 出现其药物熔点峰;其余样品在90 $^{\circ}\text{C}$ 左右均出现一宽峰,这可能是由于样品中所含的水分蒸发所致的吸热峰;HP- β -CD和壳聚糖以无定形态存在,未显示熔融吸热峰;两个物理混合物中均存在一个熔融吸热峰,说明其中的RES仍以晶体存在,其峰形较宽、较钝,且温度较RES原料药的熔点低,这可能是由于温度高于 T_g ,药物处于高弹态,药物分子的热运动速率增加,使部分药物分子进入HP- β -CD空腔,部分药物分子与HP- β -CD外部的羟丙基形成氢键紧密连接,从而对药物的熔点存在抑制。RES-HP- β -CD和RES-HP- β -CD-Chitosan中均未出现RES的熔点峰,说明其中的RES以分子状态或无定型状态存在。

2.2.4 红外光谱法 使用红外光谱仪分别对RES原料药、HP- β -CD、壳聚糖、RES与HP- β -CD物理混合物、RES-HP- β -CD、RES-HP- β -CD-Chitosan及其处方量的物理混合物进行扫描,通过溴化钾(KBr)压片的方法,在

4 000~400 cm^{-1} 的条件范围内进行检测。红外光谱分析图见图3。

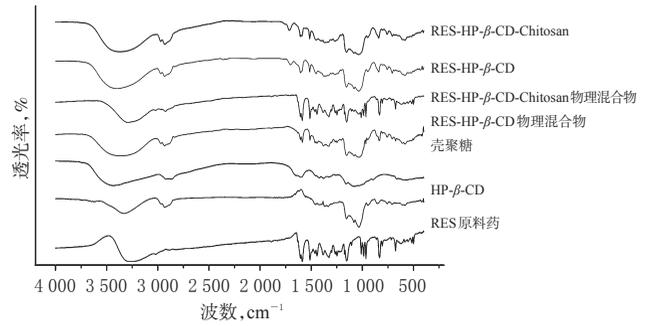
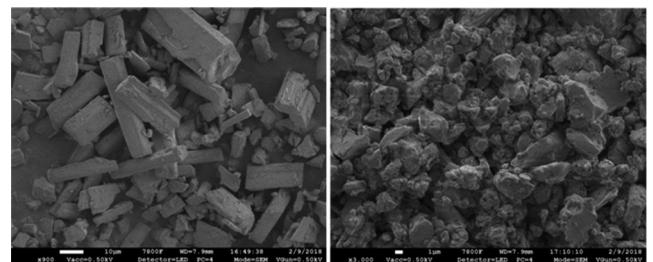


图3 红外光谱分析图

Fig 3 IR spectrum

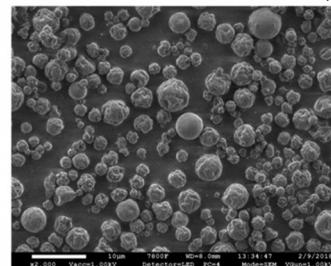
由图3显示,RES的特征峰有3 305 cm^{-1} 、1 515 cm^{-1} 和1 380 cm^{-1} (酚苯环)、964 cm^{-1} 、827 cm^{-1} 和678 cm^{-1} 。HP- β -CD的特征峰有3 448 cm^{-1} 、2 937 cm^{-1} 、1 654 cm^{-1} 、1 049 cm^{-1} 以及757 cm^{-1} 、850 cm^{-1} 、935 cm^{-1} (葡萄糖环特征吸收峰)。壳聚糖的特征峰是—OH与N—H因氢键作用而致伸缩振动吸收峰重叠形成的,其波长为3 480 cm^{-1} 。在两个物理混合物的红外光谱中仍存在RES的酚苯环特征峰。而在RES-HP- β -CD、RES-HP- β -CD-Chitosan的红外光谱中均未发现RES的酚苯环吸收峰,提示RES被包合于HP- β -CD中。

2.2.5 扫描电子显微镜 精密称取少量RES原料药、RES-HP- β -CD和RES-HP- β -CD-Chitosan,涂布在带有双面黏附胶的玻璃片上,操作电压为20 kV,使用扫描电子显微镜观察不同样品粒子表面的微观形态。扫描电子显微镜图见图4。



A. RES原料药($\times 900$)

B. RES-HP- β -CD($\times 3\ 000$)



C. RES-HP- β -CD-Chitosan($\times 2\ 000$)

图4 扫描电子显微镜图

Fig 4 Scanning electron microgram

由图4显示,RES原料药为棒状晶体,制成RES-HP- β -CD、RES-HP- β -CD-Chitosan后,药物分散均

匀,且未出现RES原料药晶体,这进一步证实了RES被包合于HP- β -CD中。此外,RES-HP- β -CD-Chitosan呈球形,由于热胀冷缩现象,其表面出现收缩褶皱。

2.3 RES含量的测定

2.3.1 检测波长的选择 称取RES对照品适量,加1%醋酸溶液10 mL,超声(功率:180 W,频率:59 kHz,下同)使其溶解,加入无水乙醇定容至100 mL,在200~400 nm进行紫外扫描。按RES-HP- β -CD-Chitosan制备方法制备不含RES的空白辅料,同法制备成空白辅料溶液,在200~400 nm进行紫外扫描。结果显示,RES在307 nm波长处有最大吸收,空白辅料溶液在307 nm波长处无吸收,故确定RES的检测波长为307 nm。紫外吸收光谱图见图5。

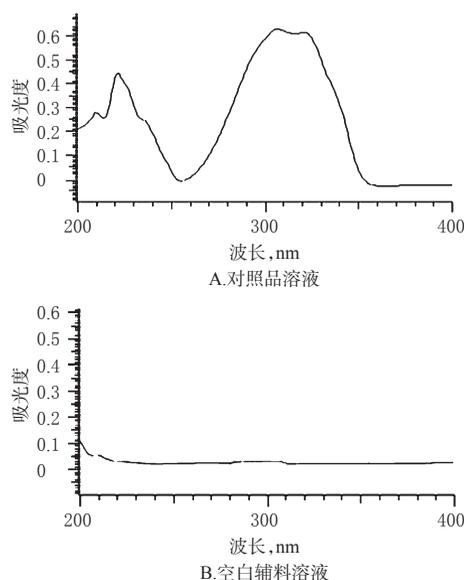


图5 紫外扫描光谱图

Fig 5 UV scanning spectrum

2.3.2 线性关系的考察 精密称取RES对照品30 mg,加1%醋酸溶液10 mL,超声使其溶解,再用无水乙醇定容至100 mL。分别用移液管移取上述溶液0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 mL,置于100 mL量瓶中,加无水乙醇定容,于307 nm波长处测定RES的吸光度。以吸光度为纵坐标(y),质量浓度为横坐标(x)进行回归分析,得回归方程为 $y=0.1301x-0.0092$ ($R^2=0.9997$),结果表明,RES检测质量浓度在1.8~6.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

2.3.3 稳定性试验 精密称取RES-HP- β -CD-Chitosan适量(约相当于30 mg RES),置于100 mL量瓶中,加1%醋酸溶液10 mL,超声使其溶解,再用无水乙醇定容至刻度,再用移液管量取1 mL,置于100 mL量瓶中,加无水乙醇定容制成供试品溶液。供试品溶液在室温下放置0、1、2、4、8、12 h后,于307 nm波长处测定RES的吸光度。结果,RES吸光度的RSD $<1\%$ ($n=6$),表明RES在

室温下放置12 h的稳定性良好。

2.3.4 精密度的试验 取RES对照品,按“2.2.2”项下方法制备RES质量浓度分别为2.4、4.2、5.4 $\mu\text{g/mL}$ 的无水乙醇溶液,于307 nm波长处测定RES的吸光度,同日内每个浓度测定3次,连续测定3 d,考察日内精密度和日间精密度。结果,RES吸光度的日内、日间RSD均 $<2.0\%$ ($n=3$)。

2.3.5 回收率试验 称取24、30、36 mg的RES对照品,分别加入相应处方量的空白辅料,置于100 mL量瓶中,加1%醋酸溶液10 mL,超声使其溶解,并用无水乙醇定容至刻度,制备成RES质量浓度分别为2.4、3.0、3.6 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,于307 nm波长处测定RES的吸光度,计算含量。以测定值/加入值 $\times 100\%$ 计算回收率。结果,平均回收率分别为100.0%、100.24%、99.7%,RSD=1.77% ($n=3$)。

2.4 载药量与包封率的测定

精密称取RES-HP- β -CD-Chitosan适量(约相当于30 mg RES),置于100 mL量瓶中,加适量1%醋酸溶液10 mL,超声使其溶解,再用无水乙醇定容至刻度,用移液管量取1 mL,置于100 mL量瓶中,加无水乙醇定容。于307 nm波长处测定RES的吸光度,计算含量,再按以下公式计算载药量和包封率。载药量=微球中含药量/微球总质量 $\times 100\%$;包封率=微球实际含药量/微球理论含药量 $\times 100\%$ 。结果,RES-HP- β -CD-Chitosan中RES的载药量为11.67% ($n=3$),包封率为96.27% ($n=3$)。

3 讨论

为了改善RES的水溶性差的问题,本试验采用HP- β -CD包合RES,以提高RES的体外溶解度;再通过加入壳聚糖制备成RES-HP- β -CD-Chitosan,使该RES制剂在体内呈现出生物黏附特性和缓释的特性。本试验结果表明,RES在RES-HP- β -CD-Chitosan中处于分子状态或无定型状态。RES分子间的水难溶性主要是由于其分子间发生分子内的氢键键合,使其水溶性降低^[15]。本研究通过采用HP- β -CD包合,避免了RES分子间氢键键合,相邻的RES分子由于HP- β -CD包合作用不能通过分子间氢键键合,以及环糊精的包合作用可以有效的增加药物的水溶性。从X射线衍射、差式扫描量热、红外光谱及扫描电镜结果来看,RES药物在制剂中以非晶形存在,由于药物以非晶形的状态存在,因此降低了药物在介质中溶解过程的活化能,使药物可以更快速地溶解,提高溶解度。再则本试验的制备方法简单可行,较容易实现工业化生产。

本文并没有测试RES-HP- β -CD-Chitosan的Zeta电位。主要是由于RES-HP- β -CD-Chitosan是固体粉末,如加入到水中混悬测定Zeta电位,会导致HP- β -CD从微球

中溶解出来,不能保持其原有结构,使测定值不准确;如果使用乙醇作为分散介质来测定 RES-HP- β -CD-Chitosan 的 Zeta 电位,则会导致药物和环糊精都溶解在介质中,同样不能准确测定出 Zeta 电位。再则注射用的纳米制剂测定 Zeta 电位主要是考察制剂的稳定性。但是相比于注射的纳米制剂,本文制备的 RES-HP- β -CD-Chitosan 的粒径较大,制剂的粉末流动性较好;并且口服微球进入胃肠道以后,由于胃液及肠液的 pH 值影响,微球的 Zeta 电位对该制剂在体内的运输、传递及释放等方面可能影响较小。因此基于上述几点原因本研究并没有测定微球的 Zeta 电位。

壳聚糖是自然界广泛存在的多糖,其具有良好的生物相容性、生物黏附性,且对细胞无毒^[16]。本试验制备的 RES-HP- β -CD-Chitosan 有可能提高 RES 药物的吸收主要原因如下:(1)口服后壳聚糖质子化后,可在微球表面形成凝胶,使药物缓慢释放;(2)由于细胞膜表面为负电荷,通过正、负电荷吸引壳聚糖与黏膜产生黏附作用,延长药物在胃肠道的滞留时间,从而加药物吸收^[17];(3)壳聚糖可以打开肠道细胞之间连接,增加药物的吸收^[18]。

参考文献

[1] 张纯刚,唐静雅,于琛琛,等.白藜芦醇固体分散体在大鼠体内的药动学和绝对生物利用度研究[J].中草药,2018,49(12):2908-2913.

[2] 任红暖,王晓丽,陈肖如,等.白藜芦醇-泊洛沙姆 188 固体分散体的制备及其性能研究[J].中国药房,2015,26(25):3554-3557.

[3] NEYRA RECKY JR, TOSATO MG, SERRANO MP, et al. Evidence of the effectiveness of Resveratrol in the prevention of guanine one-electron oxidation: possible benefits in cancer prevention[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2019. DOI:10.1039/C9CP03027A.

[4] YANEZ M, JHANJI M, MURPHY K, et al. Nicotinamide augments the anti-inflammatory properties of resveratrol through PARP1 activation[EB/OL].[2019-05-07].<https://www.nature.com/articles/s41598-019-46678-8>.

[5] 潘玮.白藜芦醇通过 SIRT1/NF- κ B/CD40 途径调控动脉粥样硬化免疫炎症反应的机制研究[D].福州:福建医科大学,2017.

[6] BREUSS JM, ATANASOV AG, UHRIN P. Resveratrol and its effects on the vascular system[J]. *Int J Mol Sci*, 2019. DOI:10.3390/ijms20071523.

[7] SUMMERLIN N, QU Z, PUJARA N, et al. Colloidal mesoporous silica nanoparticles enhance the biological activity of resveratrol[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016. DOI:10.1016/j.colsurfb.2016.03.076.

[8] 李瑶,陈静雅,吴玉兰,等.高效液相色谱法研究白藜芦醇光致异构化动力学与平衡常数[J].色谱,2016,34(8):783-787.

[9] ZUPANČIČ Š, LAVRIČ Z, KRISTL J. Stability and solubility of trans-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015. DOI:10.1016/j.ejpb.2015.04.002.

[10] 杨阳,李传刚,舒晓宏.白藜芦醇代谢模式的研究进展[J].中国药学杂志,2013,48(24):2081-2083.

[11] WALLE T. Bioavailability of resveratrol[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2011. DOI:10.1111/j.1749-6632.2010.05842.x.

[12] SAITA MG, ALEO D, MELILLI B, et al. Effect of cyclodextrin additives on azithromycin in aqueous solution and insight into the stabilization mechanism by sulfobutyl ether- β -cyclodextrin[J]. *Int J Pharm*, 2019. DOI:10.1016/j.ijpharm.2019.06.025.

[13] 钱康,孙海锋,慈天元,等.环糊精在上市医药产品中的应用研究进展[J].药学进展,2016,40(7):483-489.

[14] 张晓明,朱良奎,成蕾,等.壳聚糖/海藻酸钠/多孔淀粉-茶树精油微胶囊制备及释放性能分析[J].分析化学,2019,47(6):862-868.

[15] CARUSO F, TANSKI J, VILLEGAS-ESTRADA A, et al. Structural basis for antioxidant activity of trans-resveratrol: ab initio calculations and crystal and molecular structure[J]. *J Agric Food Chem*, 2004,52(24):7279-7285.

[16] CROISIER F, JÉRÔME C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering[J]. *Euro Polym J*, 2013, 49(4):780-792.

[17] 黄倩. N-三甲基壳聚糖包衣去氢骆驼蓬碱脂质体制备及其在大鼠体内药物代谢动力学[D].苏州:苏州大学,2013.

[18] ARTURSSON P, LINDMARK TDS, DAVIS SSL, et al. Effect of chitosan on the permeability of monolayers of intestinal epithelial-cells (Caco-2)[J]. *Pharm Res*, 1994, 11(9):1358-1361.

(收稿日期:2019-06-18 修回日期:2019-08-07)

(编辑:邹丽娟)