

新型抗血吸虫药物 QH917 自微乳化释药系统的优化和评价

张建媛^{1,2}, 甘勇², 甘莉², 朱春柳², 潘卫三^{1*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁沈阳 110016; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 筛选新型抗血吸虫药物 QH917 自微乳化释药系统的处方。以油相的用量 (%) 和表面活性剂与助表面活性剂的质量比 (K_m) 作为自变量, 自乳化时间 (t)、平均粒径 (PS) 和多分散系数 (PI) 作为因变量, 采用星点设计——效应面法进行处方优化, 模拟体内环境, 考察了离子强度、食物、pH 值、转速和介质体积对优化处方释放的影响, 并采用大鼠在体小肠吸收试验评价了优化处方的吸收情况。结果表明, 优化处方为: 油相中链甘油三酸酯 (MCT) 的质量分数为 30% ~ 34%, 表面活性剂聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油 (Cremophor RH40) 与助表面活性剂乙醇的质量比为 4.8 ~ 5.2。优化处方的释放行为基本不受介质环境的影响。大鼠在体小肠吸收试验表明胆管结扎与未结扎对吸收率无显著影响, 个体间吸收行为差异性较小。以星点设计——效应面法对自微乳化释药系统的处方进行优化, 预测性良好, 优化处方体外释放和大鼠小肠吸收行为均比较稳定。

关键词: 抗血吸虫药物; 星点设计——效应面法; 自微乳化释药系统; 在体小肠吸收

中图分类号: R943.3 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)04 - 0434 - 06

Optimization and evaluation of a new antischistosomal drug QH917 self-microemulsifying drug delivery system

ZHANG Jian-yuan^{1,2}, GAN Yong², GAN Li², ZHU Chun-liu², PAN Wei-san^{1*}

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: To screen a new poorly water-soluble antischistosomal drug QH917 self-microemulsifying drug delivery system which has steady release *in vitro* and absorption *in situ* separately. The formulation was optimized using central composite design-response surface methodology. Independent variables were oil content (%) and the weight ratio of surfactant and cosurfactant (K_m), while response variables were self-microemulsifying time (t), mean particle size (PS) and polydispersity index (PI). The effects of ionic strength, food, pH, rotation speed and medium volume on drug release of the optimized formulation were evaluated under conditions simulating *in vivo* physiological situations. The absorption of the optimized formulation was studied using *in situ* intestinal permeability technique of rats. The optimized formulation was as follows: the content of media chain triglyceride (MCT) was 30% - 34% (*w/w*); and the weight ratio of surfactant polyoxyl 40 hydrogenated castor oil (Cremophor RH40) and co-surfactant ethanol was 4.8 - 5.2. Release of QH917 from the optimized formulation was nearly unaffected by ionic strength, food, pH, rotation speed and medium volume. There was no marked difference of the absorption rate between rats with and without ligated bile duct in rat intestinal permeability technique. Inter-individual variability in absorption of the optimized formulation was negligible. Central composite design-response surface methodology is an efficient approach for optimizing formulations of self-microemulsifying drug delivery system; drug release *in vitro* and absorption behavior *in situ* of the optimized formulation is steady.

Key words: antischistosomal drug; central composite design-response surface methodology; self-microemulsifying drug delivery system; *in situ* intestinal absorption

收稿日期: 2006-09-25.

* 通讯作者 Tel: 86 - 24 - 23986313, Fax: 86 - 24 - 23953241, E-mail: ppwss@163.com

QH917(自拟代号)是一种新型青蒿素类衍生物,具有一定的抗日本血吸虫的活性。它几乎不溶于水,采用常用的制剂方法制成 β 环糊精包合物、固体分散体、油溶液和微粉化混悬液等,药物的生物利用度均没有明显改善(生物利用度不到1%)。鉴于此,将其制成了包含药物、油相、表面活性剂和助表面活性剂的自微乳化药物传递系统(self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS),该系统的基本特征是在胃肠道内或在环境温度(通常指体温37℃)及温和搅拌的情况下能自发形成水包油型的微乳^[1]。

目前国内外对SMEDDS的研究报道已较多,多数是针对特定的难溶性药物开展处方筛选和药代动力学行为研究。在本研究中,首先采用星点设计——效应面法对QH917 SMEDDS进行了优化,获得了体外释放稳定的优化处方,再评价优化处方在体小肠吸收情况,从而为后续的药代动力学研究提供依据。

材料与方法

仪器 岛津 LC-20AT高效液相色谱仪(日本岛津公司);RCZ-8B溶出试验仪(天津大学无线电厂);Nicom p 380动态光散射粒度测定仪(Santa Barbara, California, USA);Spectrum lab53紫外-可见分光光度计(上海棱光技术有限公司)。

药品和试剂 QH917(中国科学院上海药物研究所合成室提供);中链甘油三酸酯(MCT, Toshisun International pty Ltd.);乙醇(太仓新太酒精有限公司);聚氧乙烯40氢化蓖麻油(Cremophor RH40,德国BASF公司);乙腈(色谱纯,美国TEDIA公司);牛磺胆酸钠(美国Sigma公司);大豆磷脂(EPIKURON 170,德国德国赛公司);其他试剂均为国产分析纯。

Kreb-Ringer营养液(pH 7.4):将NaCl 7.80 g, KCl 0.35 g, NaHCO₃ 1.37 g, NaH₂PO₄ 0.32 g, MgCl₂ 0.02 g及葡萄糖 1.40 g定容于1 000 mL蒸馏水中^[2]。

动物 健康SD大鼠,雄性,体重200~300 g,由中国科学院上海药物研究所实验动物中心提供[合格证号:SCXK(沪)2003-0003]。

QH917 SMEDDS的制备 称取MCT 3.4 g与乙醇 1.03 g混合后,加入QH917 0.2 g,超声使溶解,再加入Cremophor RH40 5.37 g,混合形成澄清溶液,密封,室温放置,备用。

QH917 SMEDDS质量评价指标的选择 理想的自微乳化处方应在较短的时间内快速分散成粒径小而均匀的乳粒^[3],这是确保药物被迅速吸收的必要条件。选择平均粒径(mean particle size, PS)、多分散系数(polydispersity index, PI)和自乳化时间(self-emulsifying time, *t*)作为QH917 SMEDDS处方评价的指标。

采用美国Nicom p 380动态光散射粒度测定仪测定PS和PI。SMEDDS一般在20 min内可达到乳化平衡。乳化达到平衡的分散体系,散射光强度不变;若散射光强度仍在变化,则说明未乳化完全(这种情况只会发生在乳化效果较差的处方)。

取QH917 SMEDDS适量,加入100 mL(37.0±0.5)℃蒸馏水中,50 r·min⁻¹搅拌,定时取液,在400 nm测定吸收度 A_t ,以20 min测得的 A_0 值作为100%,将吸收度达到100%的时间 t 作为完全乳化的时间。

星点设计——效应面法 在单因素试验的基础上,选择油相MCT的质量分数(X_1)、表面活性剂Cremophor RH40和助表面活性剂乙醇的质量比 K_m (X_2)作为考察因素,取值范围分别为: X_1 : 22.9~37.1; X_2 : 3.6~6.4。各因素水平的代码值和实际操作值由星点设计原理确定^[4]。

以PS(Y_1), PI(Y_2)和 t (Y_3)作为评价指标(因变量),分别对各因素水平进行多元线性回归和二项式、三项式拟合。以拟合方程的回归系数 r 对方程进行准确性检验,根据最优方程绘制效应面和等高线,选取优化区,并在优化区中选择代表性的处方I, II, III进行验证,计算偏差。

$$\text{偏差} = (\text{预测值} - \text{实际值}) / \text{预测值} \times 100\%$$

不同介质环境下体外释放的评价 从上述经过验证的处方中选择处方III作为优选处方,采用方差分析法评价离子强度、食物、pH值、转速、介质体积对处方III体外释放的影响。

肠循环中药物浓度测定方法的建立 (1) 色谱条件:色谱柱:Zorbax RX-C₈(150 mm×4.6 mm, 5 μ m),流动相:乙腈-水 70:30,检测波长:210 nm;流速:1 mL·min⁻¹;柱温:25℃;进样量:20 μ L。(2) 药物标准曲线的建立:按优化处方III制备QH917 SMEDDS,取0.5 mL,置于10 mL量瓶中,用Kreb-Ringers营养液乳化完全,并定容至刻度,作为母液。分别吸取母液0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 3 mL,置于10 mL量瓶,用Kreb-Ringers营养液定容至刻度,摇

匀,配制成药物质量浓度为 5, 10, 25, 50, 100, 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列溶液,按照上述色谱条件测定,以峰面积 (A)对药物浓度 (C)进行线性回归,得标准曲线方程。(3) 药物浓度的测定:于不同时间点取肠循环液 5 mL,用 0.8 μm 微孔滤膜过滤,取 20 μL 注入 HPLC 测定,由标准曲线方程求得 QH917 的浓度。

QH917 在空白肠循环液中的稳定性研究 取一定量 Kreb-Ringers 营养液,回流 2 h 得空白肠循环液。取 QH917 SMEDDS 0.5 mL,用空白肠循环液定容至 50 mL,在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 恒温水浴中孵育 2 h,分别测定 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 h 的药物浓度。

优化处方在大鼠体内小肠吸收的研究^[5] 选择 SD 大鼠 20 只,随机分成两组,给药前 12 h 禁食,可自由饮水,实验时腹腔注射 20% 乌拉坦 ($5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$) 麻醉,并加以固定。沿腹中线切开腹部,一组结扎胆总管,另一组不结扎。自十二指肠上部及结肠下部各插入直径约 0.5 cm 玻璃插管,扎紧,用 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 生理盐水冲净肠内容物,再用空气将生理盐水排净。将插管接上恒流泵,恒温 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 的药液 100 mL (剂量 $6.8\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),以 $5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 流速回流 10 min。取样 5 mL,记为 0 时,量取溶液体积,同时补加 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ Kreb-Ringers 液 5 mL,之后将流速调为 $2.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。在 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2 h 分别记录溶液体积,取样 5 mL,用 0.8 μm 微孔滤膜过滤后补液 5 mL,根据溶液体积计算剩余药量。以剩余药量的对数值对时间进行线性回归。

结果

1 星点设计试验结果

按照星点设计原理,安排 13 次试验,对试验数据进行多元线性、二次多项式和三次多项式拟合,以方程回归系数 r 最大且 F 检验合格为原则,结果三次多项式拟合结果最好,得到如下回归方程:

$$Y_1 = 3\ 010.555\ 27 + 166.901\ 12X_1 - 1\ 669.545\ 6X_2 - 6.543\ 23X_1^2 + 305.954\ 56X_2^2 - 24.719\ 12X_1X_2 + 1.848\ 71X_1^2X_2 - 8.033\ 87X_1X_2^2 \quad (r = 0.901\ 2, P < 0.1)$$

$$Y_2 = 87.084\ 95 - 4.992\ 35X_1 - 17.549\ 88X_2 + 0.074\ 11X_1^2 + 0.424\ 79X_2^2 + 0.923\ 12X_1X_2 - 0.012\ 92X_1^2X_2 - 0.009\ 37X_1X_2^2 \quad (r = 0.999\ 2, P < 0.005)$$

$$Y_3 = 1\ 079.379\ 67 - 49.233\ 69X_1 - 315.578\ 51X_2 + 0.546\ 3X_1^2 + 23.277\ 85X_2^2 + 12.094\ 01X_1X_2 - 0.093\ X_1^2X_2 - 0.651\ 9X_1X_2^2 \quad (r = 0.929\ 3, P < 0.05)$$

采用 Statistica 6.0 统计软件绘制以上拟合方程的效应面和等高线,结果见图 1。由图中可以看出,当油相的质量分数从 20% 增大到 38% 时,随着 K_m 值增大,PS 先减小后增大,这与一些自乳化文献^[6,7] 报道的结果一致; K_m 值小于 5.7 且 MCT 的质量分数小于 30% 时,PI 均较大 (> 0.2); MCT 含量大于 30%, K_m 值大于 4.3 时,PI 值逐渐减小后又有所回升; t 效应面表明,当 MCT 的质量分数小于 34%, K_m 值小于 4.5 时, t 呈急剧上升趋势,这可能是由于表面活性剂的用量超过某一临界点时使得体系形成了凝胶态,减慢了乳化速率。

文献^[8] 报道,体内吸收良好的 SMEDDS 应该能在较短的时间内乳化,且得到粒径较小、分布较窄的微乳。本研究中规定 QH917 SMEDDS 的优化处方应满足以下指标: $PS \leq 100\ \text{nm}$, $PI \leq 0.2$, t 为 5 min 左右或者更短。依据上述指标,得出预测的各因素最佳范围见表 1。

Table 1 The optimized ranges of the indexes estimated

Factor	Y_1	Y_2	Y_3
X_1	24 - 35	30 - 35	29 - 34
X_2	4.8 - 6.9	4.3 - 5.7	4.5 - 5.2

2 优化处方的验证

根据表 1 综合评价,选出因素最佳取值范围为: $X_1 = 30 \sim 34$, $X_2 = 4.8 \sim 5.2$, 以油相用量较多的原则, K_m 选择极值点和中心点,在此优化区中选择 3 点:处方 I: $X_1 = 34$, $X_2 = 4.8$; 处方 II: $X_1 = 34$, $X_2 = 5.0$; 处方 III: $X_1 = 34$, $X_2 = 5.2$, 按照此条件制备 QH917 SMEDDS,进行验证,结果处方 I, II, III PS 的偏差分别为 - 4.71%, - 4.68%, - 3.90%; PI 偏差分别为 - 2.14%, - 1.14%, 1.74%; t 偏差分别为 - 3.64%, - 3.77%, - 3.85%。可见各指标偏差的绝对值均小于 5%,建立的数学模型具有良好的预测效果。

3 不同环境下体外释放的评价

从验证的 3 个处方中选择处方 III 作为优化处方,考察离子强度、食物、pH 值、转速和介质体积对于优化处方体外释放的影响。

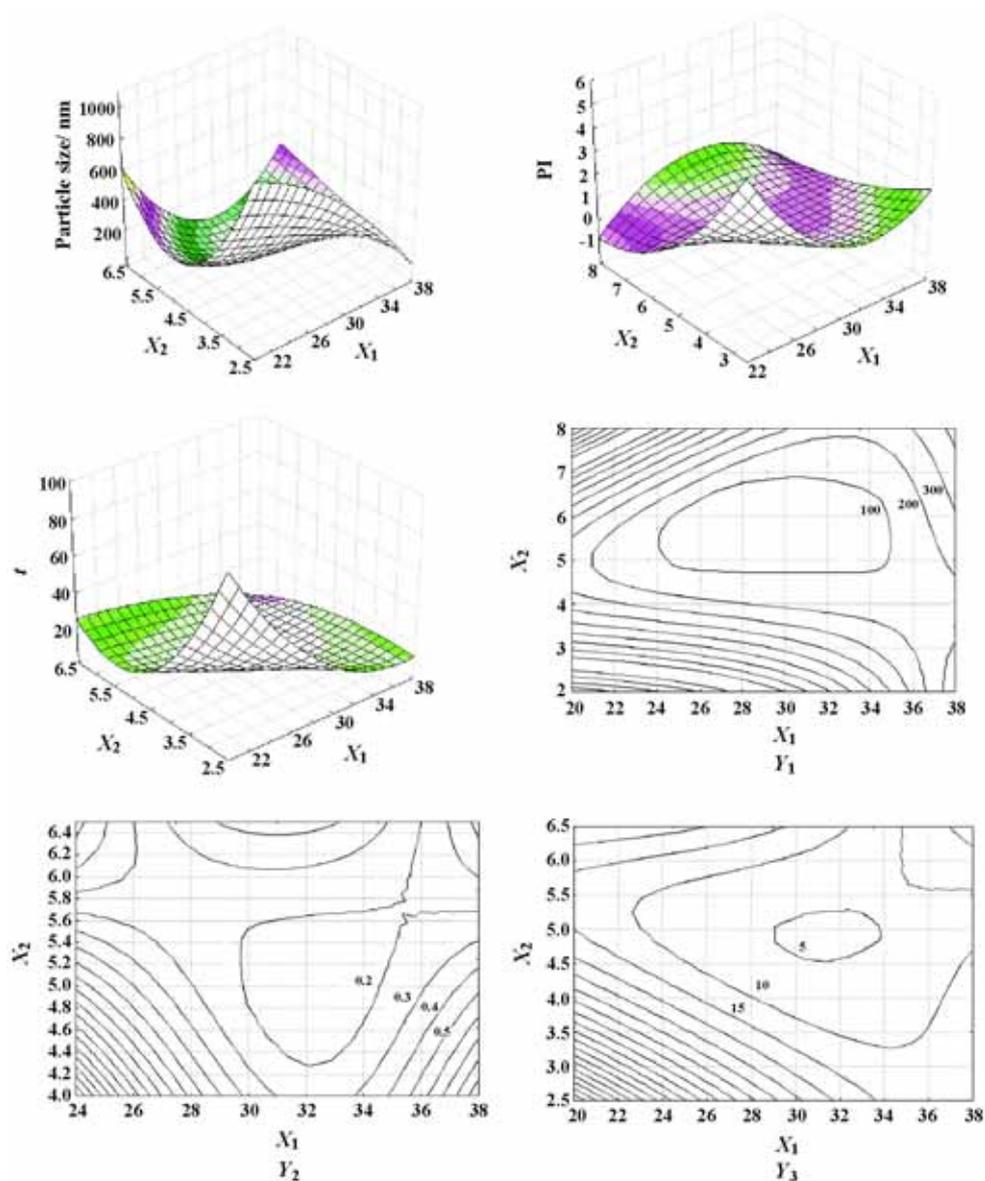


Figure 1 Response surfaces and contour plots of PS (Y_1), PI (Y_2), t (Y_3) as functions of the weight percentage of MCT (X_1) and K_m (X_2)

3.1 离子强度的影响 Na^+ 和 Cl^- 是胃肠液中主要的离子,故选择离子强度为 0.025, 0.100, 0.200 的 3种氯化钠溶液考察离子强度的影响。结果见表 2。单因素方差分析结果显示,离子强度对 QH917 SMEDDS的体外释放无显著性影响。

Table 2 The effect of ionic strength on QH917 SMEDDS ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Ionic strength	0.025	0.100	0.200
t /min	5.51 ± 0.20	5.63 ± 0.21	5.76 ± 0.25
PS/nm	70.7 ± 2.6	75.4 ± 2.9	75.6 ± 2.8
PI	0.174 ± 0.011	0.176 ± 0.013	0.178 ± 0.014

3.2 食物效应 为考察食物对 QH917 SMEDDS释放的影响,模拟了空腹 (fasted state condition, FaSSIF)和进食条件 (fed state condition, FeSSIF)下人体小肠液的组成,配制两种不同的溶出介质^[9-12],介质组成见表 3。

将 QH917 SMEDDS 0.5 mL分别加入以上介质 200 mL中,测定 t , PS和 PI,结果见表 4。单因素方差分析结果显示,食物对 QH917 SMEDDS的体外释放无显著性影响。

3.3 pH值的影响 考察 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl (pH 1.0), pH 4.5 PBS及 pH 6.8 PBS不同 pH值溶液对 QH917 SMEDDS的影响。结果见表 5。由表中可

见,在考察的 pH 值范围内, QH917 SMEDDS在 0.1 mol·L⁻¹ HCl中乳化能力稍有降低,这可能是由于盐酸中的氢离子与水竞争结合表面活性剂的乙氧基,使之乳化能力变差。单因素方差分析结果显示,介质 pH 值对 QH917 SMEDDS的体外释放无显著性影响。

Table 3 Medium simulating FaSSIF and FeSSIF in the small intestine

Medium	FeSSIF	FaSSIF
KH ₂ PO ₄	8.65 g	3.90 g
NaOH	pH 5.0	pH 6.8
Sodium taurocholate	15 mmol·L ⁻¹	5 mmol·L ⁻¹
Lecithin	3.75 mmol·L ⁻¹	1.50 mmol·L ⁻¹
KCl	15.2 g	16.4 g
Deionized water	1 000 mL	1 000 mL

Table 4 The effect of food on QH917 SMEDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Medium	FeSSIF	FaSSIF
t/m in	5.22 ± 0.25	5.64 ± 0.25
PS /nm	70.0 ± 2.2	71.0 ± 2.2
PI	0.167 ± 0.012	0.171 ± 0.016

Table 5 The effect of pH on QH917 SMEDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Medium	0.1 mol·L ⁻¹ HCl	PBS (pH 4.5)	PBS (pH 6.8)
t/m in	5.92 ± 0.26	5.51 ± 0.35	5.24 ± 0.30
PS/m in	78.4 ± 2.8	75.3 ± 3.1	70.5 ± 2.1
PI	0.178 ± 0.017	0.169 ± 0.013	0.172 ± 0.012

3.4 转速的影响 考察转速 50, 100, 150 r·min⁻¹对 QH917 SMEDDS的影响。结果见表 6,单因素方差分析结果显示,转速对 QH917 SMEDDS的体外释放无显著性影响。

Table 6 The effect of rotation speed on QH917 SMEDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Rotation speed /r·min ⁻¹	50	100	150
t/m in	5.23 ± 0.31	4.97 ± 0.31	5.07 ± 0.21
PS/nm	69.7 ± 3.6	69.3 ± 2.3	70.4 ± 2.2
PI	0.175 ± 0.016	0.176 ± 0.013	0.175 ± 0.015

3.5 介质体积的影响 以水为稀释介质,考察水的体积为 50, 100, 200 mL对 QH917 SMEDDS的影响。结果见表 7,单因素方差分析结果显示,介质体积对

QH917 SMEDDS的体外释放无显著性影响。

Table 7 The effect of media volume on QH917 SMEDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Medium volume /mL	50	100	200
t/m in	5.42 ± 0.36	4.91 ± 0.30	4.97 ± 0.31
PS/nm	70.5 ± 2.2	69.5 ± 2.2	67.5 ± 2.7
PI	0.171 ± 0.015	0.171 ± 0.019	0.174 ± 0.013

4 优化处方在大鼠体内小肠吸收试验

4.1 HPLC方法学考察及 QH917肠循环液中稳定性 在已建立的色谱条件下,空白循环液对药物测定无干扰; QH917含量测定的标准曲线为 $C = 0.0016A - 0.5495, r = 0.9999 (n = 6)$ 。经方法学考察,高中低 3 个浓度 12.53, 10.44, 8.35 μg·mL⁻¹的回收率分别为 (100.1 ± 0.2)%, (100.3 ± 0.3)%, (99.8 ± 0.6)%,日内和日间精密度分别为 0.33%和 0.51%,均符合要求。QH917在空白肠循环液中 2 h稳定。

4.2 大鼠在体小肠吸收试验结果 大鼠在体小肠循环灌流 2 h后,以剩余药量的对数值对取样时间作图,求得吸收速率常数 K_a 和 2 h时药物吸收百分率 PA 。表 8为胆管结扎和未结扎大鼠的实验结果。结果表明,结扎胆管和未结扎胆管时的吸收速率常数和 2 h的吸收百分率无显著性差异,无论结扎胆管与否,个体间的吸收速率常数差异均较小。

Table 8 The *in situ* intestinal absorption kinetic parameters of rats with and without ligated bile duct ($n = 10$)

Rat	K_a /h^{-1}	PA/%
Ligated bile	0.3973 ± 0.0429	52.9 ± 4.1
Without ligated bile	0.4256 ± 0.0336	56.4 ± 3.6

讨论

SMEDDS能将药物增溶在微小的乳滴中,从而显著增大了难溶性药物的溶出速率,对于提高这些药物的口服生物利用度有着重大意义。然而,个体间和个体内的药代动力学参数的高变异性仍然是制约该技术广泛应用的瓶颈之一。例如免疫抑制剂环孢素 A (cyclosporine A),虽已制成 SMEDDS成功上市,但是由于个体间药代动力学参数的较大差异,临床上仍然需要加强血药浓度监测,以避免可能出现的不良反应。

SMEDDS进入体内后,通常包括以下两个过程:

(1) 释放过程:遇水快速分散成粒径小而均匀的乳粒,这是确保药物被迅速吸收的必要条件;(2) 吸收过程:药物从乳粒中扩散进入胃肠液中,穿透小肠壁吸收入血。这两个过程先后发生,但并不孤立存在。任何一个步骤对于胃肠道环境过于敏感,都将导致最终体内药代动力学参数的较大变异性。本研究针对 QH917 SMEDDS的体外释放和体内吸收开展试验工作。

针对释放过程,选用了星点设计——效应面法优化处方,该方法遵循循序渐进的原则,根据球面设计原理确定极值和水平,更适用于非线性拟合的试验设计^[4]。经过验证,优化的处方在模拟生理条件下(不同搅拌强度、pH值、离子强度和有无食物存在下)均表现出稳定的体外释放特性。针对吸收过程,采用大鼠在体小肠透过模型,考察了优化处方的吸收状况。结果显示,优化处方具有较稳定的吸收特征(个体间吸收程度和速度差异均较小),而且吸收行为几乎不受胆汁的影响。

由此可见,本研究获得的 SMEDDS优化处方,具有良好的体外释放和在体吸收特征,提示体内药代动力学参数可能具有较小的变异性。进一步的结果尚需后续动物体内药代动力学试验验证。

References

- [1] Zhou QH, Ping QN. Self-emulsifying drug delivery systems [J]. Prog Pharm Sci (药学进展), 2001, 25: 134 - 138.
- [2] Song HT, Xie T, Kang LP, et al. The intestinal absorption kinetics of ligustrazine in rats [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2005, 25: 905 - 907.
- [3] Gursoy RN, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs [J]. Biomed Pharmacother, 2004, 58: 173 - 182.
- [4] Wu W, Cui GH. Central composite design- response surface methodology and its application in pharmaceuticals [J]. Foreign Med Sci (Pharm) (国外医学药学分册), 2000, 27: 292 - 298.
- [5] Yuan Q, Li XR, Wang HJ, et al. The absorption kinetics of silymarin microemulsion in rat intestine [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2004, 39: 631 - 634.
- [6] Shah NH, Carvajal MT, Patel CI, 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: 15 - 23.
- [7] Wakerly G, Pouton CW, Meakin BJ. Evaluation of the self-emulsifying performance of a non-ionic surfactant-vegetable oil mixture [J]. J Pharm Pharmacol, 1987, 39: 6 - 14.
- [8] Kang BK, Lee JS, Chon SK, et al. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs [J]. Int J Pharm, 2004, 274: 65 - 73.
- [9] Galia E, Nicolaides E, Horter D, et al. Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs [J]. Pharm Res, 1998, 15: 698 - 705.
- [10] Dressman JB, Reppas C. *In vitro* - *in vivo* correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs [J]. Eur J Pharm Sci, 2000, 11: S73 - S80.
- [11] Ingels F, Defeme S, Destexhe E, et al. Simulated intestinal fluid as transport medium in the Caco-2 cell culture model [J]. Int J Pharm, 2002, 232: 183 - 292.
- [12] Klein S, Butler J, Hempenstall JM, et al. Media to simulate the postprandial stomach I. Matching the physicochemical characteristics of standard breakfasts [J]. J Pharm Pharmacol, 2004, 56: 605 - 610.