

环孢素 A pH敏感性纳米粒的制备与大鼠口服药代动力学

戴俊东¹, 王学清¹, 张涛², 孟萌¹, 张烜¹, 吕万良¹, 张强^{1*}

(1. 北京大学药学院, 北京 100083; 2. 华北制药集团 新药研发中心, 河北 石家庄 050015)

摘要: 目的 研究环孢素 A(CyA) pH 敏感性纳米粒的制备工艺与口服药代动力学性质。方法 采用改良的乳化溶剂扩散技术(QESD)制备 CyA pH 敏感性纳米粒;经大鼠灌胃给药, HPLC法测定全血药物浓度, 计算口服相对生物利用度。结果 经 3P87 程序拟合, 确定 CyA 在大鼠体内的药代动力学过程为二室模型;与 Neoral 微乳相比, CyA-E100, CyA-L100, CyA-L100-55 和 CyA-S100 纳米粒的相对生物利用度分别为 94.8%, 115.2%, 113.6% 和 132.5%。结论 经统计分析, CyA-S100 纳米粒可以显著改善 CyA 的生物利用度 ($P < 0.05$), 而 CyA-L100-55 纳米粒, CyA-L100 纳米粒和 CyA-E100 纳米粒与 Neoral 微乳相比无显著性差异。实验结果表明, pH 敏感性纳米粒有望成为促进蛋白、多肽类药物及难溶性药物口服吸收的有效载体。

关键词: 环孢素 A; pH 敏感性纳米粒; 口服生物利用度; 优特奇; 新山地形

中图分类号: R943.4; R969.1 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2004)12 - 1023 - 05

Preparation of cyclosporine A pH sensitive nanoparticles and oral pharmacokinetics in rats

DAI Jun-dong¹, WANG Xue-qing¹, ZHANG Tao², MENG Meng¹, ZHANG Xuan¹,
LÜ Wan-liang¹, ZHANG Qiang^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China;

2. Institute of Pharmaceutics, North China Pharmaceutical Group Co. Ltd, Shijiazhuang 050015, China)

Abstract: **Aim** To study the preparation conditions and its oral pharmacokinetic characteristics of cyclosporine A (CyA) pH sensitive nanoparticles. **Methods** The CyA pH sensitive nanoparticles were prepared by the quasi-emulsion solvent diffusion technique (QESD). Male Sprague-Dawley (SD) rats weighing (250 ± 20) g were selected and randomly divided into five groups. The bioavailability of CyA from nanoparticles and Neoral microemulsion were assessed at a dose of $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ by gavage. The concentration of CyA in whole blood samples was detected by HPLC to evaluate the relative bioavailability of CyA pH sensitive nanoparticles. **Results** The blood concentration profiles of CyA pH sensitive nanoparticles in rats fitted to two compartment models using 3P87 pharmacokinetic calculation program. Compared with the Neoral microemulsion, the relative bioavailability of CyA was 94.8%, 115.2%, 113.6% and 132.5% for CyA-E100, CyA-L100, CyA-L100-55 and CyA-S100 nanoparticles respectively. **Conclusion** CyA-S100 nanoparticles was shown to significantly improve the oral bioavailability of CyA compared with Neoral microemulsion ($P < 0.05$). While there were no significant differences between Neoral microemulsion and other CyA pH sensitive nanoparticles. With these results, the potential of pH-sensitive nanoparticles for the oral delivery of CyA was confirmed. Furthermore, this formulation approach can be used to improve the oral bioavailability of other poorly soluble and poorly absorbable drugs.

Key words: cyclosporine A; pH sensitive nanoparticles; oral bioavailability; Eudragit; Sandimmune Neoral

收稿日期: 2004-04-05.

基金项目: 863计划资助项目(2001AA218061).

* 通讯作者 Tel / Fax: 86 - 10 - 82802791, E-mail: zqdodo@bimu.edu.cn

环孢素 A (CyA)是由瑞士山德士公司 (Sandoz) 研制开发的第三代高效免疫抑制剂,它的出现开创了器官移植的新纪元。除应用于器官和组织移植外, CyA还可用于自身免疫疾病的治疗。由于 CyA是由 11 个氨基酸组成的环状多肽,分子量较大,难溶于水,容易被肠道黏膜和肝脏 P450_{3A4} 酶系降解,并且 CyA是小肠黏膜 P-glycoprotein 的底物,上述因素致使 CyA 口服生物利用度较低 (10% - 60%),个体间药代动力学参数差异较大^[1,2]。

Sandoz 公司研制的 CyA 微乳制剂新山地明 (Sandimmune Neoral) 口服后遇胃肠道消化液可以自乳化形成粒径 30 nm 左右的微乳,能够显著增加 CyA 的口服吸收 (平均生物利用度较山地明高 29%),降低患者间的个体差异,减小胃肠道生理因素对 CyA 口服吸收的影响^[3]。但其处方中含有较高剂量的表面活性剂 Cremophor RH40,有报道称 Cremophor RH40 具有肾脏毒性^[4],并容易引起过敏反应^[5]。

本文选用 pH 敏感材料优特奇 (Eudragit) 为载体,以 CyA 为模型药物,采用改良的乳化溶剂扩散技术 (QESD) 制备了 CyA pH 敏感性口服纳米粒,以 Sandimmune Neoral 为参比制剂,进行口服药代动力学研究,探讨 pH 敏感性口服纳米粒这种新型载体用于蛋白、多肽类药物口服吸收的可能性。

材料与amp;方法

仪器 Vivaflow 50 回旋流切向流超滤器 (德国沙多利斯公司); BT00-600M 蠕动泵 (保定兰格恒流泵有限公司); L8-70M 型超速离心机 (Beckman Corporation); 90Plus 型动态光散射粒度分析仪 (Brookhaven Instrument Corporation); HPL100 高效液相色谱仪 (安捷伦科学仪器有限公司); TL9000 色谱工作站 (北京泰立化电子技术有限公司); ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱;

试剂和药品 环孢素 A (cyclosporine A, 华北制药集团); 环孢素 D (cyclosporine D, 华北制药集团); 新山地明 (Sandimmune Neoral, Novartis); pH 敏感性材料 Eudragit E100, Eudragit L100-55, Eudragit L100, Eudragit S100 (Damstadt, Germany); Pluronic F68 (Sigma); 乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

实验动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 230 - 270 g, ♂, 北京大学医学部实验动物部提供。

CyA pH 敏感性纳米粒的制备 采用改良的乳

化溶剂扩散技术 (QESD)^[6] 制备 CyA pH 敏感性纳米粒。在室温条件下,取 Pluronic F68 125 mg 溶于蒸馏水 62.5 mL 中,构成水相;另取 CyA 25 mg 和 Eudragit 载体材料 125 mg 共溶于无水乙醇 25 mL 中,构成有机相;将有机相以 7# 骨髓穿刺针头迅速注入 500 r·min⁻¹ 搅拌的水相中。注射完毕,继续搅拌 5 min,然后转移至 60 °C 水浴中,搅拌 3 - 4 h 以挥发有机溶剂,再经超滤 (截留 M_w 10 000) 进一步浓缩后即得纳米粒胶体溶液。

CyA pH 敏感性纳米粒包封率测定 取相当于每 1 mL 中约含 CyA 0.4 mg 的纳米粒胶体溶液适量,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤以除去不溶的载体残留物和可能存在的 CyA 微晶,取续滤液在 10 °C 120 000 ×g 条件下超速离心 60 min。RP-HPLC 测定纳米粒胶体续滤液及上清液中的 CyA 含量,按下列公式计算纳米粒的收率、包封率及载药量。

$$\text{Yield} = \frac{C_c \times V}{W_c} \times 100\%$$

$$\text{Drug entrapped efficiency (\%)} = \frac{(C_c \times V) - (C_r \times V)}{(C_c \times V)} \times 100\%$$

$$\text{Drug loading (\%)} = \frac{(C_c \times V) - (C_r \times V)}{W_c} \times 100\%$$

其中 C_c: CyA pH 敏感性纳米粒胶体续滤液中 CyA 的含量; V: CyA pH 敏感性纳米粒胶体续滤液的体积; C_r: CyA pH 敏感性纳米粒胶体上清液中 CyA 的含量; W_c: 制备 CyA pH 敏感性纳米粒胶体 CyA 的理论投料量; W_e: 制备 CyA pH 敏感性纳米粒胶体 Eudragit 载体材料的理论投料量。

CyA pH 敏感性纳米粒的粒径测定 取 CyA pH 敏感性纳米粒胶体溶液适量分散至蒸馏水中,采用动态光散射仪测定平均粒径,每份样品测定 3 次。

给药和取样 取 240 只雄性 SD 大鼠 (250 ± 20) g, 随机均分为 5 组。试验前禁食 12 h, 自由饮水。分别灌胃给予自制环孢素 A pH 敏感性纳米粒胶体溶液和参比制剂 Neoral 微乳溶液 (浓度调整为含环孢素 A 1.5 mg·mL⁻¹), 以避免时间节律对 CyA 血药浓度的影响^[7], 给药剂量 15 mg·kg⁻¹。于给药后 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 和 72.0 h 从大鼠眼眶后静脉丛取血约 0.6 mL (每只大鼠在 6 h 间隔内取血不多于 2 次), 置于事先以 1% 肝素抗凝的干燥 Ep 管中, 冷冻贮藏。给药 4 h 后允许大鼠自由进食。

血样处理方法 精密量取待测血样 0.5 mL 置于 10 mL 具塞离心管中, 加内标溶液 (60 μg·mL⁻¹

CyD 甲醇溶液) 50 μL , 稀盐酸溶液 (180 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 mL, 在液体快速混合器上快速涡旋混合 2 min; 加无水乙醚 5 mL, 密塞, 水平固定在振荡器上, 振荡 15 min; 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取乙醚层置于 10 mL 具塞离心管中; 分别加入 1% 的偏重亚硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 溶液 2.5 mL 和氢氧化钠溶液 (95 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 mL, 密塞, 水平固定在振荡器上, 振荡 15 min; 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取无色乙醚层置于 5 mL 具塞离心管中, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹干; 残渣加 120 μL 重组液 (乙腈-水, 70:30), 涡旋混合 2 min, 加正己烷 1 mL, 涡旋混合 2 min, 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃去正己烷层; 残液再加正己烷 1 mL, 涡旋混合 2 min, 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃去正己烷层, 精密量取最终残液 40 μL 注入液相色谱仪^[7]。

标准曲线制备 精密量取 SD 大鼠空白血样 0.5 mL, 加 CyA 系列对照品溶液 50 μL , 制成不同浓度的系列标准血样, 按血样处理与测定方法操作。以 CyA 的浓度为横坐标, CyA 与内标 CyD 的峰面积比为纵坐标绘制标准曲线。

色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm , Agilent, USA); 流动相: 乙腈-甲醇-水 (59:21:21); 流速: 1.5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 210 nm; 柱温: 70 $^{\circ}\text{C}$ 。

药代动力学参数计算和统计处理 以 3P87 药代动力学计算程序 (中国药理学会编制) 处理 CyA 的全血药物浓度数据, 计算药代动力学参数, 通过平均血药浓度-时间数据拟合选择药代动力学模型。其中 C_{max} 和 T_{max} 按实测值计算, AUC 采用梯形面积法计算; 所有参数均采用 Microsoft Excel 软件进行

成对双样本 t 检验。

结果

1 CyA pH 敏感性纳米粒的包封率及平均粒径

采用不同 pH 敏感性材料制备的 CyA 纳米粒的包封率及平均粒径测定结果见表 1。结果表明, 载体 Eudragit 的种类对纳米粒的粒径有显著性影响 ($P < 0.05$), 而对纳米粒的收率、包封率和载药量影响不大。4 种纳米粒对 CyA 的包封率均大于 90%, 相应的载药量约为 20%; 纳米粒中 CyA 的收率除 CyA-L100 纳米粒 (89.80 \pm 0.03)% 以外, 均在 96% 以上。如此高的包封率和收率主要是由于 CyA 和 pH 敏感性载体材料 Eudragit 的疏水性所致。CyA 在水中溶解度很低, 所以在制备过程中主要分布在油相中, 只有极少的一部分分散在水相中。文献^[8]报道, 20 - 30 $^{\circ}\text{C}$ 的 Pluronic F68 水溶液中 CyA 的溶解度小于在纯水中的溶解度, 因此本文 pH 敏感性纳米粒的制备方法中应用 Pluronic F68 作为表面活性剂具有重要意义, 不仅可以降低纳米粒的表面张力, 增加其在胶体溶液中的稳定性, 还具有提高 CyA 包封率的作用。

2 HPLC 方法学研究

2.1 专属性 采用上述色谱条件及萃取方法所得的 HPLC 色谱图见图 1。结果表明, CyA 与内标 CyD 的保留时间分别为 9.592 min 和 12.567 min, 色谱峰分离良好, 不受内源性杂质峰的干扰。

2.2 线性关系和灵敏度 血样中 CyA 的质量浓度在 0.1 - 6.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 线性关系良好, $r = 0.9998$, 回归方程为: $Y = 4.9520X - 0.02127$ 。最低检测限为 10 ng。

Table 1 Characteristics of CyA-pH sensitive nanoparticles ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Fomulation	Yeild/%	Drug entrapped efficiency/%	Drug loading/%	Mean particle diameter/nm
CyA-E100 nanoparticles	96.7 \pm 0.5	90.90 \pm 0.05	18.90 \pm 0.22	99 \pm 13
CyA-L100 nanoparticles	89.80 \pm 0.03	98.20 \pm 0.08	19.90 \pm 0.14	107 \pm 15
CyA-L100-55 nanoparticles	96.30 \pm 0.20	99.900 \pm 0.010	20.60 \pm 0.20	60 \pm 6
CyA-S100 nanoparticles	98.8 \pm 0.6	99.90 \pm 0.05	20.30 \pm 0.12	37 \pm 6

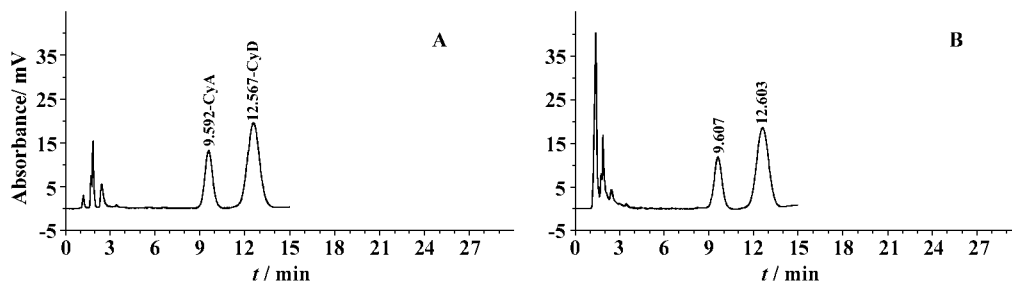


Figure 1 Chromatogram of CyA and CyD Standard (A); Blood samples added internal standard (CyD, B)

2.3 精密度与准确度 按血样的处理与测定方法, 测定 0.2, 1.2 和 3.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低、中、高 3 个质量浓度 CyA 标准血样的日内、日间精密度和回收率。数据见表 2。结果表明此法回收率较高, 相对标准偏差均小于 7.0%, 符合生物样本测定方法的要求, 能保证测定结果的准确性和精密性。

Table 2 Recovery and precision of the HPLC method to determine CyA in rat blood

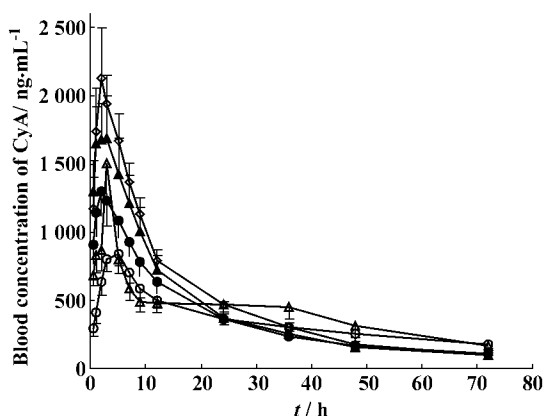
Amount added / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Within-day (n=5)		Between-day (n=25)		Recovery / %
	Found / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD / %	Found / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD / %	
0.2	0.202 4	4.91	0.210 9	6.24	103.3
1.2	1.195 1	2.91	1.180 8	3.21	99.0
3.2	3.226 9	3.68	3.268 9	4.18	101.5

2.4 提取回收率 精密量取 SD 大鼠空白血样 0.5 mL, 加 CyA 系列对照品溶液 50 μL , 分别制成低、中、高 3 个质量浓度 (0.2, 1.2 和 3.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的标准血样, 按血样的处理与测定方法测定。以提取后 CyA 及内标 CyD 的色谱峰峰面积与未经提取直接进样获得的同浓度 CyA 及内标 CyD 的色谱峰峰面积之比, 考察样品的提取率。3 种浓度下 CyA 的提取回收率分别为 (101 \pm 6)%, (104 \pm 4)% 和 (107 \pm 3)%, CyD 的提取回收率为 (101 \pm 5)%。

3 血药浓度及药代动力学参数

用 HPLC 法测得的大鼠口服 4 种 CyA pH 敏感性纳米粒胶体溶液和 Neoral 微乳溶液的平均血药浓度-时间曲线见图 2。经 3P87 药代动力学计算程序拟合, 确定 CyA 在大鼠体内的药代动力学过程为二室模型, 与文献^[9]报道一致。按非房室分析法计算的主要药代动力学参数见表 3。

CyA pH 敏感性纳米粒胶体溶液和 Neoral 微乳溶液灌胃给药后个体间的血药浓度差异较大, 在吸收相的各时间点尤为显著。在所有制剂中, CyA-S100 纳米粒的 C_{max} [(2 244 \pm 329) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$] 最



●—● Neoral; ○—○ CyA-E100; ▲—▲ CyA-L100-55; △—△ CyA-L100; ◇—◇ CyA-S100

Figure 2 Blood concentration profiles of CyA after oral administration of loaded Eudragit E100, Eudragit L100-55, Eudragit L100, Eudragit S100 and the reference Neoral into fasted SD rats at a dose of 15 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($n=8, \bar{x} \pm s$)

大, 其 AUC_{0-72} (35 286 \pm 2 859) $\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 是参比制剂 Neoral 微乳的 1.32 倍。CyA-E100 纳米粒的 C_{max} [(929 \pm 85) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$] 最低, 其 AUC_{0-72} (25 242 \pm 2 552) $\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与 Neoral 微乳相比降低了 5.2%。CyA-L100-55 和 CyA-L100 纳米粒的 C_{max} 分别为 (2 108 \pm 254) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 (1 672 \pm 430) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC_{0-72} 约为 Neoral 微乳的 1.15 倍。

讨论

与 Neoral 微乳相比, CyA-S100 纳米粒的口服相对生物利用度增加了 32.5%, CyA-L100-55 纳米粒和 CyA-L100 纳米粒分别增加了 15.2% 和 13.6%。而 CyA-E100 纳米粒则降低了 5.2%。载药纳米粒经小肠吸收受多种因素影响, 其中粒径对吸收的影响尤为显著^[10]。Desai MP^[11] 的研究表明, 粒径小于 100 nm 的粒子被肠道 Peyer's patches 所捕获的数量

Table 3 Pharmacokinetic parameters of CyA incorporated pH sensitive nanoparticles and the reference Neoral after oral administration to fasted SD rats (n=8, x̄±s)

Pharmacokinetic parameter	Neoral	CyA-E100 nanoparticle	CyA-L100-55 nanoparticle	CyA-L100 nanoparticle	CyA-S100 nanoparticle
$C_{\text{max}} / \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	1 341 \pm 175	929 \pm 85*	2 108 \pm 254**	1 672 \pm 430	2 244 \pm 329*
$T_{\text{max}} / \text{h}$	2.38 \pm 0.17	4.2 \pm 0.3**	2.1 \pm 0.7	3.9 \pm 0.7**	2.50 \pm 0.18
$\text{MRT}_{0-72} / \text{h}$	21.4 \pm 0.9	27.5 \pm 0.8**	19.2 \pm 1.4	27.1 \pm 1.1**	18.5 \pm 1.0*
$\text{AUC}_{0-72} / \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	26 634 \pm 2 451	25 242 \pm 2 552	30 674 \pm 3 403	30 251 \pm 3 625	35 286 \pm 2 859*
$F_r / \%$	-	94.8	115.2	113.6	132.5*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Neoral microemulsion

明显高于其他粒径的粒子。与 CyA-L100-55 纳米粒、CyA-E100 纳米粒和 CyA-L100 纳米粒相比, CyA-S100 纳米粒的粒径最小, 灌胃给药血药浓度 C_{max} 和 AUC_{0-72} 最大, 口服相对生物利用度与 Neoral 微乳相比具有显著性差异。这表明纳米粒的粒径可能是促进 CyA 口服吸收的一个重要因素。

尽管 CyA-E100 纳米粒的粒径小于 CyA-L100 纳米粒, 但其血药浓度 C_{max} 和 AUC_{0-72} 均小于后者。其原因可能与肠溶性载体材料对 CyA 的保护作用有关。Eudragit L100-55, Eudragit L100 和 Eudragit S100 均为 pH 敏感性阴离子聚合物, 能够在 pH 高于 5.5, 6.0 和 7.0 的水溶液中溶解, 从而可以分别将负载的药物定位输送至十二指肠、空肠或回肠部位释放。由这些肠溶材料制得的 CyA 纳米粒在胃液中不溶, 能够保护 CyA 免受胃酸和胃液中消化酶的降解破坏。研究表明^[12] CyA 主要在小肠部位吸收, 因此可以通过选择适当的肠溶材料制备 CyA 纳米粒, 依靠载体材料在特定 pH 条件下溶解的特性, 将 CyA 运送至小肠的特定部位, 使其在主要吸收部位释放, 维持较高的药物浓度, 从而提高 CyA 的口服生物利用度。

本文的实验结果表明, pH 敏感性纳米粒可以显著改善 CyA 的口服吸收, 提高其口服生物利用度, 有望成为促进蛋白、多肽类药物及难溶性药物口服吸收的有效载体。

References:

- [1] Lindholm A, Henricsson S, Lind M, *et al.* Intra-individual variability in the relative availability of cyclosporin after oral dosing [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 1988, **34**(5): 461 - 464.
- [2] Tjai JF, Webber IR, Back DJ. Cyclosporin metabolism by the gastrointestinal mucosa [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1991, **31**(3): 344 - 346.
- [3] Noble S, Markham A. Cyclosporin: a review of pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (Neoral) [J]. *Drugs*, 1995, **50**(5): 924 - 941.
- [4] Luke DR, Kasiske BL, Matzke GR, *et al.* Effect of cyclosporin on the isolated perfused rat kidney [J]. *Transplantation*, 1987, **43**: 795 - 799.
- [5] Cavanak T, Sucker H. Cyclosporin. Formulation of dosage forms [J]. *Prog Allergy*, 1986, **38**: 65 - 72.
- [6] Kawashima Y, Niwa T, Handa T, *et al.* Preparation of controlled-release microspheres of ibuprofen with acrylic polymers by a novel quasi-emulsion solvent diffusion method [J]. *J Pharm Sci*, 1989, **78**(1): 68 - 72.
- [7] Malmay MF, Houti I, Labat C, *et al.* Chronopharmacokinetics of cyclosporine A following a single iv dose in the Wistar rat [J]. *Eur J Pharm Sci*, 1995, **3**(1): 49 - 56.
- [8] Molpeceres J, Guzmán M, Aberturas MR, *et al.* Application of central composite designs to the preparation of polycaprolactone nanoparticles by solvent displacement [J]. *J Pharm Sci*, 1996, **85**(2): 206 - 213.
- [9] Li HS, Zhao JL, Wei SL, *et al.* Preparation of cyclosporine a loaded polylactic-acid nanoparticles colloids and their oral bioavailabilities on rats [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1999, **34**(8): 532 - 536.
- [10] McClean S, Prosser E, Meehan E, *et al.* Binding and uptake of biodegradable poly(DL-lactide) micro- and nanoparticles in intestinal epithelia [J]. *Eur J Pharm Sci*, 1998, **6**(2): 153 - 163.
- [11] Desai MP, Labhasetwar V, Amidon GL, *et al.* Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size [J]. *Pharm Res*, 1996, **13**(12): 1838 - 1845.
- [12] Drewe J, Beglinger C, Kissel T. The absorption site of cyclosporin in the human gastrointestinal tract [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1992, **33**(1): 39 - 43.