

川芎油自微乳化软胶囊大鼠在体肠吸收研究

蔡 勤^{1*}, 李 燕², 黄燕萍¹

(1. 四川科伦药物研究有限公司, 四川 成都 610500; 2. 四川大学口腔疾病研究国家重点实验室, 四川 成都 610021)

摘要: 为了考察川芎油剂型选择的合理性, 进行了原料、包合物和自微乳化软胶囊的比较吸收实验; 并进一步明确自乳化软胶囊的小肠吸收特点, 进行了不同浓度、不同肠段、有无胆汁分泌的在体肠吸收实验。通过药液在肠腔内循环, 以藁本内酯为川芎油的指标性成分测定不同时间回流液中藁本内酯浓度变化, 得到药物的吸收情况。结果表明, 自微乳化软胶囊显著提高藁本内酯的吸收 ($P < 0.001$), 效果最好。400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 藁本内酯的吸收显著高于 200 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P < 0.001$), 而后两个浓度的吸收无差异。胆管结扎与否不影响药物吸收。自乳化软胶囊可被大鼠全肠段吸收, 其中十二指肠吸收最好, 各肠段 K_a 、 P_{app} 是十二指肠>空肠>回肠=结肠。

关键词: 自微乳化; 川芎油; 在体肠吸收

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 04-0425-05

In situ absorption of self-microemulsifying soft capsule of volatile oil from rhizome of Ligusticum chuanxiong in rats' intestine

CAI Qin^{1*}, LI Yan², HUANG Yan-ping¹

(1. Sichuan Kelun Drug Development Co. Ltd., Chengdu 610500, China;

2. State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610021, China)

Abstract: In order to investigate the rationality of formulation, the absorption behavior of volatile oil from rhizome of ligusticum chuanxiong (VOC) was compared with that of β -cyclodextrin inclusion complex and self-microemulsifying soft capsule (SMESC). To study the properties of intestinal absorption *in situ* of SMESC, a series of studies were carried out including the absorption at different concentrations, at different intestinal regions and under different bile secretion conditions. The samples of the perfusion solution were collected at certain intervals. Ligustilide (LD) was chosen as marker component of VOC and the concentrations of which in the perfusion samples were determined by HPLC method. The results demonstrated that the absorption of LD in SMESC was the best and the absorption of VOC increased apparently ($P < 0.001$). The absorption of LD at concentration of 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ was better than that at 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P < 0.001$), while there was no significant difference between the absorption at concentrations of 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The absorption of SMESC was not apparently influenced by bile secretion. SMESC could be absorbed in whole intestinal segments. The absorption rate constants (K_a) or apparent permeability coefficients (P_{app}) of SMESC showed duodenum > jejunum > colon = ileum. K_a and P_{app} of SMESC at duodenum were significantly higher than that at the other regions of intestine ($P < 0.001$).

Key words: self-microemulsifying; volatile oil from rhizome of Ligusticum chuanxiong; intestinal absorption *in situ*

川芎油 (volatile oil from rhizome of ligusticum

chuanxiong, VOC) 是从中药材川芎中提取的挥发油。近年来, 许多中药挥发油被制成自微乳化释药系统 (self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS) 以提高其口服生物利用度, 获得了满意的效果。作者

收稿日期: 2008-11-13.

*通讯作者 Tel: 86-28-66058778, E-mail: liursh2006@163.com

通过处方筛选制备了VOC的自乳化软胶囊 (self-microemulsifying soft capsule, SMESC)^[1], 并在体外进行了多项评价^[2]。评估药物口服吸收效果的常用方法是整体动物的药代动力学实验, 但是存在着生物样本中药物分析的难度大、周期较长等一些局限性。目前, 国内大多采用在体肠循环技术研究药物在体肠的吸收情况。根据大鼠小肠的生理状况与人体具有相似的特点, 采用大鼠在体肠吸收模型来进行研究, 方法简便、快捷、可行, 并且动物吸收特点与人体吸收的相关性也得到许多实验证实^[3]。本研究采用大鼠在体肠吸收实验, 从多个方面对SMESC的吸收情况进行考察。

材料与方法

仪器 LEAD-2 恒流泵 (保定兰格恒流有限公司), 紫外分光光度计 (TU-1901, 北京普析通用仪器股份有限公司), 美国 Alltech 高效液相色谱仪 (Alltech426 色谱泵, Alltech200 检测器, chromstation data system ver5.3)。

药品与试剂 SMESC、环糊精包合物、藁本内酯 (ligustilide, LD) 对照品均为自制, 苯巴比妥钠 (上海新亚药业有限公司), 酚红 (天津科密欧), 其余试剂均为分析纯 (成都市科龙化工试剂厂)。

动物 Wistar 雌性大鼠, SPF 级, 体重 (250±20) g, 四川抗菌素研究所药理室提供, 合格证号: 川室动质字[2000]042 号。

试液配制 K-R 营养液(肠循环液): 称取 NaCl 7.8 g, KCl 0.35 g, CaCl₂ 0.37 g, NaHCO₃ 1.37 g, NaH₂PO₄ 0.32 g, MgCl₂ 0.02 g, 葡萄糖 1.4 g 和维生素 C 1.0 g, 用水定容至 1 L, 即得。酚红标准储备液: 精密称取酚红 0.025 0 g, 置于 100 mL 量瓶中, K-R 营养液稀释至刻度, 摇匀即得。酚红供试液: 精密吸取酚红标准储备液 6 mL, 用 K-R 营养液定容至 50 mL。微乳稀释液: 取自制的 SMESC 0.5 g, 用 K-R 营养液溶解、定容至 50 mL, 即得。含酚红的微乳稀释液: 精密吸取酚红标准储备液 6 mL 和 SMESC 0.5 g, 用 K-R 营养液定容至 50 mL。VOC 溶液: 称取 VOC 适量, 加入 10% 乙醇溶解, 再以 K-R 酚红液分散均匀, 得 LD 含量约为 400 μg·mL⁻¹ 的药液, 按每份 50 mL, 分装即得。包合物混悬液: 取 VOC 包合物适量, 以 K-R 酚红液分散均匀, 加入少量 CMCNa 增加稠度, 防止粉末沉淀, 得 LD 含量约为 400 μg·mL⁻¹ 的药液, 按每份 50 mL, 分装即得。混合溶剂: 将异丙醇、乙醚和水, 按 4:2:1 的比例混合, 即得。

肠循环液中酚红浓度测定 含酚红试液的处理: 酚红加入到乳液中后, 其吸收峰被掩盖, 无法采用 UV 法测定酚红浓度。因此, 采用混合溶剂将微乳破乳后再用 UV 法测定, 具体制备方法如下: 取酚红供试液或含酚红的微乳稀释液 0.5 mL, 加入 1 mol·L⁻¹ NaOH 0.5 mL 和混合溶剂 4.0 mL, 混匀。标准曲线的制备: 以 K-R 液配制含酚红 2.50、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 和 60.0 μg·mL⁻¹ 的系列标准液, 取上述各标准液 0.5 mL, 置 10 mL 试管中, 准确加入 NaOH (1 mol·L⁻¹) 0.5 mL 和混合溶剂 4.0 mL, 混匀。空白溶液制备: K-R 营养液 0.5 mL, NaOH (1 mol·L⁻¹) 0.5 mL 和混合溶剂 4.0 mL, 混匀。在 556 nm 处测定吸收度。以吸收度对酚红质量浓度 ρ (mg·L⁻¹) 进行线性回归。肠循环液中酚红浓度测定: 肠循环液不同时间样品中, 分别移取 0.5 mL, 准确加入 NaOH (1 mol·L⁻¹) 0.5 mL 和混合溶剂 4.0 mL, 空白溶液制备同上, 在 556 nm 处测吸收度, 将吸收度代入酚红标准曲线求酚红浓度。

HPLC 法测定肠循环液中 LD 的浓度 VOC 主要成分为各种内酯, 以 LD 的含量最高, 且被证明是川芎中具有改善心脑血管作用的主要成分^[4,5], 同时 LD 含量常用作衡量川芎药材质量高低的指标^[6,7], 因此本实验选择 LD 为 VOC 的指标成分。色谱条件: 色谱柱为 Alltech, Alltima, ODS (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%三氟乙酸 (65:35), 柱温 35 °C, 检测波长 325 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 进样量: 20 μL。标准曲线绘制: 精密称取 LD 对照品 57.14 mg 于 5 mL 量瓶中, 加无水乙醇溶解并稀释至刻度, 得 11.428 mg·mL⁻¹ LD 贮备液。精密吸取不同体积贮备液置 5 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 得质量浓度分别为 114.28、57.14、28.57、14.28、7.14、3.57 和 1.79 μg·mL⁻¹ 的 LD 溶液。取不同浓度的该溶液, 按上述色谱条件进样分析, 以 LD 峰面积对浓度绘制标准曲线。肠循环液中 LD 浓度的测定: 自微乳及 VOC 肠循环液不同时间样品中, 取 0.2 mL 至 10 mL 量瓶, 流动相定容后 0.22 μm 膜过滤, HPLC 检测 LD 浓度。包合物肠循环液不同时间样品过 0.22 μm 后, HPLC 测定 LD 浓度。

药物在肠循环液中的稳定性 取一定量 K-R 营养液, 按照大鼠在体肠循环的实验方法, 回流 4 h 得空白肠循环液。取 SMESC 0.316 35 g, 加入空白肠循环液定容至 25 mL, 于 37 °C 恒温水浴中孵育 6 h, 一定时间取样、稀释, 测定药物浓度。

肠壁物理吸附的影响 取 Wistar 大鼠 3 只, 实验前禁食 12 h (自由饮水), 大鼠称重后, 腹腔注射苯

巴比妥钠溶液麻醉,将麻醉后的大鼠固定于手术台板上,沿腹中线切开腹部。取冲净后的空白小肠段,长约 90 cm,置于 50 mL 已知浓度药液中,在 37 °C 水浴中孵育 2 h,取出肠段,测定孵育液的 LD 浓度。

大鼠在体肠循环实验 大鼠给药前 12 h 禁食,自由饮水。腹腔注射苯巴比妥钠 40 mg·kg⁻¹,麻醉后固定。沿腹中线打开腹腔(约 2.5 cm),在小肠肠管两端各切一小口,用 37 °C 生理盐水洗净肠道内容物。然后,于开口处插入直径为 0.3 cm 的玻璃插管,用线扎紧后与蠕动泵的胶管连接,形成回路。开动蠕动泵,将流速调节为 10 mL·min⁻¹,以 K-R 营养液回流 10 min 平衡肠道。给予药液 50 mL,快速(10 mL·min⁻¹)循环 5 min 后将流速调为 1.0 mL·min⁻¹,记为 0 时。每隔 10 min 取样 1.0 mL,向循环液中补加酚红液 1.0 mL,循环 2 h 后,终止实验。

不同给药系统在体肠吸收的比较 配制 LD 含量约为 200 μg·mL⁻¹ 的 SMESC、包合物混悬液、VOC 溶液,按上述方法操作。不同浓度 SMESC 在体肠吸收的比较:配制 LD 含量分别约为 400、200 和 100 μg·mL⁻¹ 的 SMESC(称取 SMESC 适量,以 K-R 酚红液乳化均匀即得),同样操作。胆管结扎对 SMESC 吸收的影响研究:配制 LD 含量约为 200 μg·mL⁻¹ 的 SMESC。胆管不结扎组的操作同上,胆管结扎组只需在上述操作上进行胆管结扎即可。SMESC 不同肠段的在体吸收:配制 LD 含量约为 200 μg·mL⁻¹ 的 SMESC,按照“大鼠在体肠循环实验”项操作。各肠段区间如下:十二指肠段自幽门 1 cm 处开始,空肠段离幽门 15 cm 开始,回肠段距离盲肠上行处 20 cm 开始,结肠段从盲肠后段开始。

吸收参数的计算 以小肠内剩余药量的对数(lnC)对取样时间(t)作图,得一直线,从直线斜率可求吸收速率常数 K_a(h⁻¹)。

$$\ln C = \ln C_0 - K_a t \quad (1)$$

吸收半衰期 t_{1/2}(h)的计算公式为:

$$t_{1/2}(h) = 0.693/K_a \quad (2)$$

吸收百分率 PA(%)的计算公式如下:

$$PA(\%) = (\rho_0 \times V_0 - \rho_t \times V_t) / \rho_0 \times V_t \times 100\% \quad (3)$$

ρ₀: 0 时间时循环液中药物浓度; V₀: 0 时间时循环液体积; ρ_t: 取样点时循环液中药物浓度; V_t: 取样点时循环液体积; t(h): 循环液循环时间。

膜表观渗透系数(P_{app})的计算公式如下:

$$P_{app}(\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}) = K_a \times 3 \ 600^{-1} \times A \quad (4)$$

K_a: 吸收速率常数; A: 小肠吸收面积。

统计学方法 实验数据均采用统计学软件 SPSS13.0 进行处理。

结果

1 肠循环液中酚红的浓度测定

酚红供试液、含酚红微乳稀释液 200~800 nm 的紫外可见光吸收见图 1,加混合溶剂处理后的紫外可见光吸收见图 2。

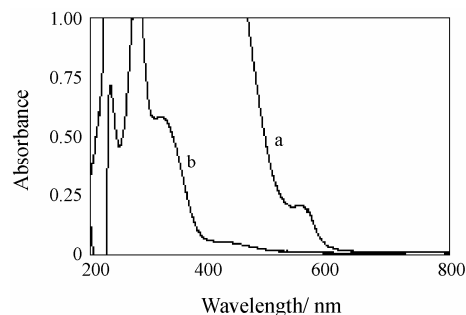


Figure 1 The UV-vis spectra of phenol red (a) and the mixed solution of phenol red and microemulsion (b)

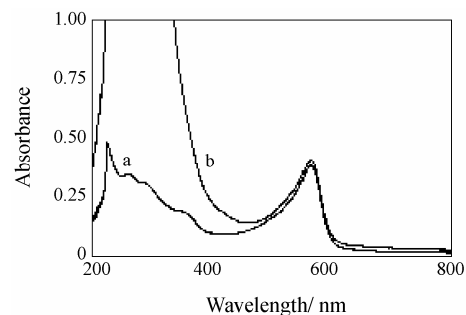


Figure 2 The UV-vis spectra of phenol red after treatment (a) and the mixed solution of phenol red and microemulsion after treatment (b)

求得酚红含量测定标准曲线为: $A = 0.012 \ 1 \ C - 0.000 \ 5$, $R^2 = 0.999 \ 9$ ($n = 6$), 线性范围为 10.00~60.00 μg·mL⁻¹。

2 药物浓度的测定

在选定色谱条件下 LD、SMESC 和肠循环液的色谱图见图 3。由图 3 可见此条件下 SMESC 中 LD 的峰与其他成分呈基线分离,其他组分不干扰 LD 的测定;肠循环液在此条件不出峰,对 SMESC 中 LD 的测定不发生干扰。求得标准曲线为: $A = 62 \ 259 \ C + 14 \ 009$, $R^2 = 1.000 \ 0$ ($n = 7$), 线性范围为 1.79~114.28 μg·mL⁻¹, 精密度 RSD=0.40% ($n = 9$), 高、中、低 3 个浓度的平均加样回收率为 100.93% (RSD=0.54%, $n = 9$)。

3 药物在肠循环液中的稳定性和肠壁物理吸附的影响

药物在 37 °C 的空白肠循环液中 6 h 内 RSD 为 0.26%,说明药物在肠循环液中 6 h 内基本稳定。

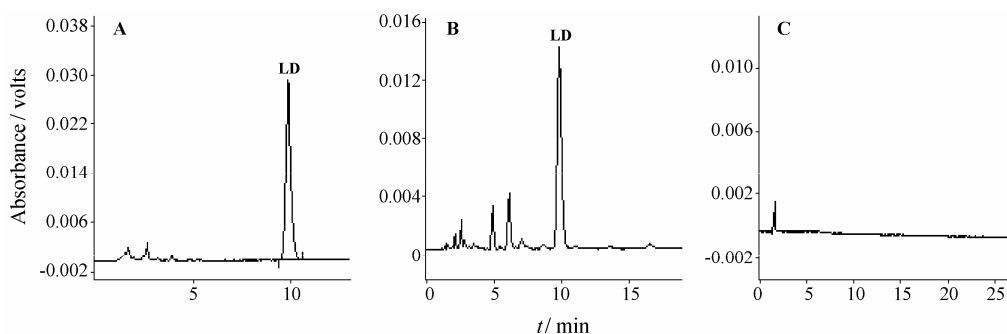


Figure 3 HPLC chromatograms of ligustilide (LD, A), perfusion sample of volatile oil from rhizome of *Ligusticum chuanxiong* self-microemulsifying soft capsule (SMESC, B) and blank intestine juice (C)

Table 1 Absorption parameters of LD in different formulation ($n = 5$, $\bar{x} \pm s$)

System	K_a/h^{-1}	$t_{1/2}/h$	PA/%	$P_{app}/cm^{-2}\cdot s^{-1}$
SMESC	$0.0167 \pm 0.0015^{***\Delta\Delta\Delta}$	42 ± 4	$86.0 \pm 3.4^{***\Delta\Delta\Delta}$	$0.00049 \pm 3E-05$
VOC	0.0066 ± 0.0014	108 ± 20	55.6 ± 8.2	$0.00029 \pm 2E-05$
Inclusion complex	0.0105 ± 0.0028	71 ± 20	3.0 ± 0.6	$0.00034 \pm 8E-05$

LD: Ligustilide; SMESC: Self-microemulsifying drug delivery system; VOC: Volatile oil from rhizome of *Ligusticum chuanxiong*; PA: Percent of absorption. $***P < 0.001$ vs VOC; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs Inclusion complex

肠段在 37°C 恒温水浴中孵育 2 h, 孵育液中药物的浓度变化 RSD 为 1.14%, 可以认为大鼠肠道对药物基本无物理吸附。通过药物稳定性和肠壁物理吸附的考察, 说明此方法适用于溶液中药物和酚红浓度的测定。

4 不同给药系统在体肠吸收的比较

对不同给药系统的吸收进行比较可以为药物新剂型的研发、剂型的选择提供依据, 本实验对川芎油、包合物和自微乳化胶囊 3 种药物形式的吸收进行考察, 以说明 SMESC 对于挥发油类给药是否具有优势。结果显示考察的 3 种形式药物在大鼠肠内都有吸收, 以 SMESC 的吸收速率常数和吸收百分率为最大 (表 1)。SMESC 吸收速率分别为 VOC 和包合物的 2.53 和 1.59 倍, SMESC 吸收百分率为 VOC 和包合物的 1.55 倍和 28.19 倍。SMESC 与 VOC 和包合物之间吸收存在极显著性差异 ($P < 0.001$)。

5 不同浓度 SMESC 在体肠吸收的比较

SMESC (400 、 200 和 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 在体肠吸收实验结果 (表 2) 发现, $400\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间的吸收有极显著性差异 ($P < 0.001$), $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间的吸收无显著性差异 ($P > 0.05$)。根据 Fick 定律在 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度之间药物吸收属于被动扩散。

以吸收百分率对取样时间作图, 结果见图 4。 400 、 200 和 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的拟合直线分别为: $y = 0.606x + 20.673$, $R^2 = 0.953$; $y = 0.601x + 8.514$, $R^2 = 0.917$; $y = 0.558x + 11.246$, $R^2 = 0.896$ 。由此可知, 3 种浓度下, 剩

余药量与时间均成线性关系, 说明药物吸收呈一级动力学特点。

Table 2 Absorption parameters of SMESC at different concentrations of LD ($n = 5$, $\bar{x} \pm s$)

Concentration/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	K_a/h^{-1}	$t_{1/2}/h$	PA/%	$P_{app}/cm^{-2}\cdot s^{-1}$
400	0.0167 ± 0.0015	42 ± 4	86.0 ± 3.4	$0.00049 \pm 3E-05$
200	0.0114 ± 0.0012	61 ± 7	76.3 ± 4.5	$0.00035 \pm 5E-05$
100	0.0116 ± 0.0010	60 ± 6	74.7 ± 2.1	$0.00031 \pm 4E-05$

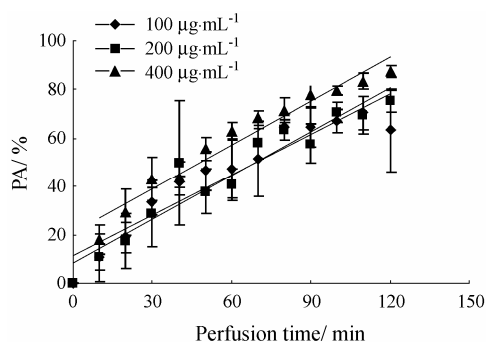


Figure 4 The curve of percent absorption (PA) with perfusion time at different concentration of LD

6 胆管结扎对 SMESC 吸收的影响研究

当自乳化给药系统在小肠上段释放时, 最重要的影响因素不在于分散时的液滴大小, 而在于它们在胆酸盐和磷脂形成的胶束中的可消化性和可溶性^[8]。本实验通过结扎胆管前后观察药物的吸收, 来考察脂解和胆汁对 SMESC 的溶解作用。结果见表 3。结果表

Table 4 Absorption parameters of LD in different parts of intestine ($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

Part	K_a/h^{-1}	$t_{1/2}/h$	PA/%	$P_{app}/cm^{-2}\cdot s^{-1}$
Duodenum	$0.010\ 9 \pm 0.000\ 9^{***}$	64 ± 5	$72.9 \pm 4.9^{***}$	$0.000\ 036 \pm 3E-06$
Jejunum	$0.008\ 7 \pm 0.000\ 5$	80 ± 5	66.5 ± 2.6	$0.000\ 029 \pm 2E-06$
Ileum	$0.008\ 5 \pm 0.000\ 6$	81 ± 6	61.3 ± 3.7	$0.000\ 028 \pm 2E-06$
Colon	$0.008\ 5 \pm 0.000\ 6$	82 ± 6	64.2 ± 4.5	$0.000\ 028 \pm 2E-06$

*** $P < 0.001$ vs Jejunum, Ileum, and Colon**Table 3** Absorption parameters of SMESC when bile duct ligated or free ($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

	K_a/h^{-1}	$t_{1/2}/h$	PA/%	$P_{app}/cm^{-2}\cdot s^{-1}$
Ligated	$0.011\ 2 \pm 0.001\ 3$	63 ± 7	78.2 ± 3.9	$0.000\ 34 \pm 4E-05$
Free	$0.011\ 4 \pm 0.001\ 2$	61 ± 7	76.8 ± 4.3	$0.000\ 35 \pm 5E-05$

明胆管结扎与否对药物的吸收没有显著影响 ($P > 0.05$)。说明 SMESC 的吸收不受胆汁分泌的影响。

7 SMESC 不同肠段的在体肠吸收

肠道不同区段的生理状况各不相同,口服药物在不同区段的吸收情况往往有较大的差异。为考察 SMESC 的吸收是否呈特定部位吸收,将小肠分为 4 个肠段即十二指肠、空肠、回肠和结肠分别进行大鼠的在体肠吸收。结果见表 4。结果说明 SMESC 可在全肠段被吸收,但十二指肠吸收速率最快,吸收百分率最大,而在结肠和回肠段吸收最慢。十二指肠与其他各肠段间吸收有极显著性差异 ($P < 0.001$); 回肠、空肠和结肠间的吸收无显著性差异 ($P > 0.05$)。

讨论

实验过程中,由于肠道对水分有吸收,导致循环液体体积改变,故采用离子型化合物酚红进行体积标定。一般认为酚红不被吸收,常用作体积标记物,但有文献报道,酚红也能被小肠吸收,平均吸收速率为 6%。 Ca^{2+} 能抑制酚红的吸收^[9]。本实验考虑到用酚红标示体积将产生的误差,故采用含有一定浓度 Ca^{2+} 的 K-R 营养液配制循环液以抑制酚红的吸收,减小实验误差。实验中,每次取样后均补加酚红溶液,再通过测定酚红浓度对循环液的体积进行校正,从而最大可能的减少实验误差。

由于 VOC 呈油状,分散到 K-R 营养液中很困难。加入 1% Tween 80 进行增溶,结果时间稍长就会析出油,导致检测结果不准确。如果增加 Tween 80 用量,又不能真实反应油的吸收情况。故改为以乙醇溶解,再分散到 K-R 营养液中,整个实验过程不析油,但大鼠容易死亡。可能是乙醇具有较大的刺激性。

SMESC 与 VOC 和包合物相比,前者明显提高了 VOC 的吸收,说明自微乳化对于挥发油类给药剂

有优势。这可能是由于 VOC 自微乳化后形成了及其细小的 W/O 乳滴^[2],依靠细小乳滴形成的巨大比表面积大大提高了 VOC 的溶出,从而增加吸收。

胆管结扎与否,对 SMESC 的吸收无显著影响,说明吸收过程不存在胆汁对表面活性剂和 VOC 的胆解作用。

References

- [1] Cai Q, Liang L, Hou SX, et al. Self-microemulsifying preparation of volatile oil from rhizome of ligusticum chuanxiong [J]. J Sichuan Univ (Med Sci) [四川大学学报(医学版)], 2008, 39: 312–314.
- [2] Cai Q, Liang L, Hou SX, et al. *In vitro* evaluation of self-emulsifying drug delivery system of volatile oil from rhizome of ligusticum chuanxiong [J]. China J Chin Mat Med (中国中药杂志), 2007, 32: 2003–2007.
- [3] Wu YN, Luan LB. *In situ* rats single pass perfusion intestinal absorption of the effective components in Radix Angelicae Pubescentis [J]. Acta Pharm Sin (药理学学报), 2008, 43: 102–107.
- [4] Natio T, Kubota K, Shimoda Y, et al. Effect of constituents in Chinese crude drug, ligustici chuanxiong rhizome on casocontraction and blood viscosity [J]. Nat Med, 1995, 49: 288–292.
- [5] Zhang DL, Li GS. The development of volatile oil from rhizome of ligusticum chuanxiong [J]. J Lishizhen Med Mat Med Res (时珍国医国药), 2005, 16: 664–666.
- [6] Zhang C, Li L, Geng LD, et al. Determination of active principle and content standard for rhizoma of chuanxiong [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med (北京中医药大学学报), 2005, 28: 66–69.
- [7] Wei YP, Liu J, Liao J, et al. Investigation of phthalide compounds of Ligusticum chuanxiong in GAP base [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2004, 39: 815–817.
- [8] Sheng X, Wu W. Self-emulsifying and self-microemulsifying drug delivery system [J]. Fudan Univ J Med Sci [复旦学报(医学版)], 2003, 30: 180–183.
- [9] Hu YQ, Zheng LY. Absorption of phenol red from rat intestine [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 1996, 27: 355–359.