

正交实验优化川陈皮素微乳凝胶剂促渗剂及体外释药评价

袁旭¹, 刘新², 郝旺青¹, 高倩², 林於^{1*}

¹重庆医科大学中医药学院; ²重庆医科大学药学院, 重庆 400016

摘要: 本文筛选了川陈皮素微乳凝胶剂的最佳透皮促渗剂并考察了其体外释药机制。采用正交实验设计, 对离体兔鼻粘膜进行体外渗透实验, 以川陈皮素的累积渗透量及渗透速率常数为指标, 优选最佳处方; 采用扩散池法对川陈皮素微乳凝胶剂进行体外释药研究, 并用无膜溶出法考察其释药机制。结果表明, 不同促渗剂对川陈皮素的累积渗透量及渗透速率常数影响大小为: 氮酮 > 冰片 > 丙二醇, 且氮酮具有显著性差异 ($P < 0.05$), 微乳凝胶剂 12 h 的累积释药率为 86%, 符合 Higuchi 方程, 其溶蚀量较少且与释药率无明显线性相关 ($r = 0.9387$)。可见, 2% 氮酮、2% 冰片和 1% 丙二醇可作为最佳促渗剂处方在川陈皮素微乳凝胶剂中使用, 且该制剂体外释药性能良好, 有一定的缓释特性。

关键词: 川陈皮素; 微乳凝胶剂; 正交实验; 促渗剂

中图分类号: R283.6

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.5.024

Optimization of Penetration Enhancer of Nobiletin Micromulsion Gel by Orthogonal Test and Evaluation of Drug Release *in vitro*

YUAN Xu¹, LIU Xin², HAO Wang-qing¹, GAO Qian², LIN Yu^{1*}

¹Chinese Medicine Department; ²Pharmacy Department, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: The penetration enhancer of nobiletin micromulsion gel was optimized and its drug release mechanism *in vitro* was studied. Orthogonal design was employed to transdermal diffusion test in nasal mucosa of rabbits *in vitro*, the cumulative permeation quantity and permeation rate of nobiletin were used as indexes to optimize the prescription; Behavior of drug release was studied by modifying diffusion cell and mechanism of drug release was studied by membrane-less model. The results showed that the influence order of different penetration enhancers on cumulative permeation quantity and permeation rate of nobiletin were as follows: azone > borneol > propanediol, while azone had significant influence ($P < 0.05$), and the cumulative release rate of microemulsion gel in 12 hours was 86% which followed the Higuchi equation, erosion rate of microemulsion gel was low and not linearly correlated with the drug release rate ($r = 0.9387$). It was evidently that the prescription of 2% azone, 2% borneol and 1% propanediol can be used as the compound penetration enhancer, it had a good property of drug release *in vitro* and showed controlled release property.

Key words: nobiletin; microemulsion gel; orthogonal test; penetration enhancer

川陈皮素 (nobiletin, NOB) 又称川皮亭, 是一种多甲氧基黄酮类化合物, 存在于包括枳实 (*Citrus aurantium* L.) 在内的多种植物中^[1]。研究发现, NOB 具有抗炎^[2]、抗氧化^[2,3]、抗肿瘤^[4]等药理活性。近年来有报道 NOB 在改善脑记忆衰退、治疗老年痴呆症等方面也具有一定的疗效^[5]。但 NOB 水溶性差, 口服制剂生物利用度极低 (约 4%), 限制了其在临床上的应用。将 NOB 制备成经鼻给药的微乳凝胶剂, 不仅能增加药物的溶解度, 提高药物生物

利用度, 也能使药物绕过血脑屏障直达中枢神经系统, 更好的发挥疗效^[6]。预实验结果表明 NOB 鼻用微乳凝胶剂虽能提高脑内的药物浓度, 但透皮性能仍然较差, 通过添加吸收促进剂能进一步提高药物对鼻粘膜的渗透能力。研究表明^[7], 透皮促渗剂在单独使用时往往不能达到预期效果, 故常由两种或多种吸收促进剂联合使用。因此, 在前期实验的基础上, 本文拟以改良的 Franz 扩散池为实验工具, 选用 3 种透皮促渗剂氮酮、丙二醇、冰片作为考察因素, 以 NOB 的透皮速率常数及累积渗透量为考察指标, 采用正交实验法筛选出 NOB 微乳凝胶剂的最佳复合促渗剂, 并测定了 NOB 在不同释放介质中的溶

解度,进行了该制剂的体外释药机制分析,为其后续的研究开发提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 仪器

LC-20AD 高效液相色谱仪(日本岛津);QL-901 漩涡振荡仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);SPS-2001 型电子天平(上海海康电子仪器厂);YB-P6 智能透皮实验仪(重庆贝奥科技有限公司);85-2 数显恒温磁力搅拌器(金坛市晶玻实验仪器厂);DKZ-480B 型电热恒温振荡仪(上海森信实验仪器有限公司);台式电动离心机 800(常州市万合仪器制造有限公司)。

1.2 材料

川陈皮素原料药(含量 > 97%,批号:ZL20150301),川陈皮素标准品(含量 > 98%,批号:1403016)南京泽朗生物科技有限公司;中碳链三甘酯(MCT)阿拉丁试剂公司;聚氧乙烯-35-蓖麻油(EL-35)德国 BASF 公司;聚乙二醇-400(PEG-400,成都市科龙化工试剂厂);去乙酰结冷胶(DGG,浙江中肯生物科技有限公司);氮酮、丙二醇(国药集团化学试剂有限公司);冰片(重庆卓诺科技有限公司);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

新西兰大白兔,雌雄兼用,体重(2.0 ± 0.2) kg,由重庆医科大学动物实验中心提供,合格证号:

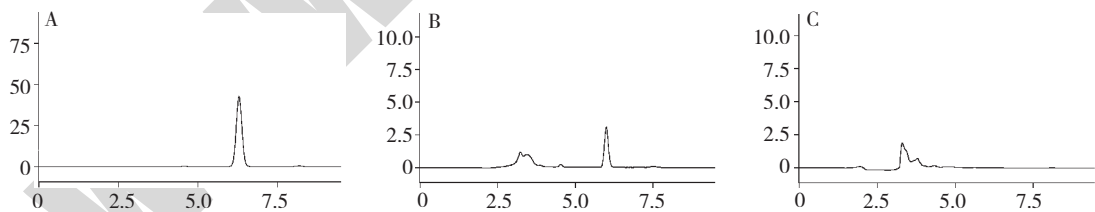


图1 接收液中川陈皮素对照品(A)、川陈皮素微乳凝胶剂(B)及空白基质(C)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance(A), nobiletin micromulsion gel(B) and blank stromal(C) in receiving liquid

2.1.5 精密度实验

按“2.1.3”项下的方法制备低($6 \mu\text{g}/\text{mL}$)、中($24 \mu\text{g}/\text{mL}$)、高($96 \mu\text{g}/\text{mL}$)3种质量浓度的对照品溶液,分别于1 d内重复进样6次,按“2.1.1”项下色谱条件测定,计算得峰面积的RSD分别为0.44%、0.21%、0.54%,表明该仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性实验

取同一接收液样品溶液,按“2.1.1”项下色谱

SYXK(渝)2012-0001。

2 方法与结果

2.1 体外测定方法建立

2.1.1 色谱条件

Hypersil ODS2-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(70:30);流速:1.0 mL/min;检测波长:332 nm;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;进样量:20 μL 。

2.1.2 对照品溶液配制

精密称取川陈皮素对照品6.0 mg,置于50 mL的容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,混匀,配制成质量浓度为120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品储备液,置4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.1.3 标准曲线建立

精密量取川陈皮素对照品溶液0.25、0.5、1、2、4、8 mL,分别置于10 mL的容量瓶中,加空白接收液定容至刻度并摇匀,得浓度为3、6、12、24、48、96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,平均峰面积为纵坐标,得回归方程为 $Y = 89631X + 2299.1$ ($R^2 = 0.9999$),结果表明川陈皮素在3 ~ 96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.1.4 专属性考察

分别精密量取空白基质的透皮接收液,对照品溶液,微乳凝胶剂体外透皮样品适量,按“2.1.1”项下色谱条件分析,结果表明,空白基质的透皮接收液成分不干扰样品测定,见图1。

条件分别于0、2、4、6、8、14、24 h进样测定,计算得峰面积的RSD为0.42%,表明该样品溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.7 回收率实验

取已知质量浓度的NOB对照品溶液,用空白接收介质稀释并制成质量浓度分别12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、48 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的样品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样,测定峰面积,计算其平均加样回收率为

99.82%, RSD 为 0.79%。

2.2 体外透皮实验

2.2.1 离体鼻粘膜的制备^[8]

耳缘 iv 过量的乌拉坦将家兔处死后,取下其鼻部前端,用手术剪将鼻腔剪开,暴露出鼻中隔及两侧鼻甲骨,用镊子及一圆头的细玻璃棒将鼻腔粘膜小心剥离,用生理盐水将粘膜上残留的血迹洗净,置于生理盐水中,4℃冰箱保存备用。

2.2.2 接收介质选择^[9,10]

体外透皮实验应选择对药物溶解度较大的接收

介质,使药物的吸收环境满足“漏槽”条件,减少体内外实验误差。在室温条件下,取过量的川陈皮素置于带帽试管中,分别加入 1 mL 的体积分数为 30% 乙醇-生理盐水,30% 吐温 80-生理盐水,30% PEG-400-生理盐水,生理盐水,PBS 缓冲盐溶液,置于恒温振荡仪中振摇 36 h 后,4500 rpm 离心 25 min,吸取 0.2 mL 的上清液用相应接收液稀释数倍,过 0.45 μm 微孔滤膜,采用 HPLC 法进样分析并计算其溶解度,结果 30% 乙醇-生理盐水溶液中川陈皮素溶解度最大(如表 1),故选其作为接收介质。

表 1 不同接收介质中川陈皮素的溶解度

Table 1 Solubility of nobiletin in different receiving medium

接收介质 Receiving medium	溶解度 Solubility (mg/mL)
生理盐水 Saline	0.121
Φ = 30% 乙醇-生理盐水 30% Ethanol-Saline	6.346
Φ = 30% 吐温 80-生理盐水 30% Tween-Saline	5.584
Φ = 30% PEG-400-生理盐水 30% PEG-400-Saline	3.745
PBS 缓冲盐溶液 Phosphate buffer solution	4.332

2.2.3 微乳凝胶剂的制备

精密称取处方量的 MCT、EL-35、PEG-400 及透皮促渗剂,室温条件下磁力搅拌混匀后,加入处方量的药物使其完全溶解,再逐滴加入 0.3% 的 DGG 溶液,混合均匀后超声脱气,即得淡黄色透明的川陈皮素微乳凝胶液。

2.2.4 透皮实验方法^[11]

采用改良的 Franz 扩散池法进行透皮吸收实验,有效透皮面积为 2 cm²,接收池体积为 7 mL。将鼻粘膜(粘膜纤毛面向上)固定在扩散池两池之间,向药池中加入 1 mL 川陈皮素微乳凝胶,使其均匀分布在鼻粘膜表面,再加入 0.25 mL 的人工鼻液使其形成凝胶。在接收池中加入事先预热的接收液,排尽气泡并开始计时。池底内置一磁力搅拌子,搅拌速度为 200 rpm,水浴温度为(34 ± 0.5)℃。分别于 0.5、1、2、4、6、8、10、12 h 取样 1 mL,并迅速补充同体积等温度的空白接收液,样品用空白接收液稀释

至线性范围内,过 0.45 μm 微孔滤膜并用高效液相色谱法测定含量,计算川陈皮素单位面积的累积渗透量(Q_n),公式如下:

$$Q_n = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

式中 C_n 为第 n 个取样点测得的质量浓度, C_i 为第 i 个取样点测定的质量浓度, V 为接收池总体积, V_i 为取样体积, A 为有效透皮面积。以累积渗透量 Q_n 为纵坐标,时间 t 为横坐标作线性回归曲线,所得直线斜率为渗透速率常数(J)。

2.2.5 促渗剂配比的优化

本实验以常用透皮促渗剂氮酮(A)、丙二醇(B)、冰片(C)用量作为考察因素,以累积渗透量及渗透速率常数作为考察指标,按照 L₉(3³) 正交实验设计为三因素三水平进行体外透皮实验(n=3),因素水平设置见表 2,正交实验结果见表 3~4。

表 2 正交实验因素水平表

Table 2 Factors and levels table of orthogonal test

水平 Levels	因素 Factors		
	A 氮酮 Azone (%)	B 冰片 Borneol (%)	C 丙二醇 Propanediol (%)
1	1	1	1
2	2	2	3
3	3	3	5

表 3 正交实验结果
Table 3 Results of orthogonal test

实验号 No.	A	B	C	累积渗透量 Cumulative permeation quantity($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	渗透速率常数 Permeation rate($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)
1	1	1	1	1011.555	87.271
2	1	2	3	1784.545	148.710
3	1	3	5	1415.595	117.390
4	2	1	3	3066.605	248.310
5	2	2	5	3435.410	280.840
6	2	3	1	3200.825	267.830
7	3	1	5	2108.095	194.280
8	3	2	1	2795.755	227.950
9	3	3	3	2924.210	248.130
$Q_n I_j$	1403.898	2062.085	2336.045		
II_j	3234.280	2671.903	2591.787		
III_j	2609.353	2513.543	2319.700		
R	1830.382	609.818	272.087		
$J I_j$	117.790	176.620	194.350		
II_j	265.660	219.167	215.050		
III_j	223.453	211.117	197.503		
R	147.870	42.547	20.700		

表 4 方差分析
Table 4 Analysis of variance

指标 Indicator	方差来源 Source	离差平方和 Sum of squares	自由度 Df	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
Q_n	A	5193952.141	2	390.036	19	*
	B	600770.916	2	45.114	19	*
	C	139702.113	2	10.491	19	-
	Total(误差)	13316.600	2			
J	A	34811.511	2	375.415	19	*
	B	3064.990	2	33.054	19	*
	C	746.303	2	8.048	19	-
	Total(误差)	92.73	2			

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$, $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$ 。

由直观分析结果可知, 无论以渗透速率常数(J)还是以累积渗透量(Q_n)作为考察指标, 各因素对微乳凝胶剂中 NOB 的经皮渗透性能影响大小的顺序均为: 氮酮(A) > 冰片(B) > 丙二醇(C)。根据方差结果可知, 氮酮对微乳凝胶剂中 NOB 经皮渗透性能影响最大, 且具有显著性($P < 0.05$), 其次为冰片、丙二醇, 即氮酮在 NOB 经皮渗透过程中其主要促渗作用。根据综合平均值大小选出最佳促渗组合为: $A_2B_2C_2$, 但考虑到丙二醇对药物的经皮渗透影

响较小, 且随丙二醇浓度增大微乳凝胶剂的粘度也增加, 影响药物的临床使用, 故选用最佳促渗方案为 $A_2B_2C_1$, 即微乳凝胶剂的透皮促渗剂的最佳处方为: 2% 氮酮 + 2% 冰片 + 1% 丙二醇。

2.2.6 验证实验

按照最优处方制备 3 批 NOB 微乳凝胶剂, 同法进行体外透皮吸收实验。结果该处方 12 h 内的平均累积渗透量为 $3398.652 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 平均渗透速率常数为 $278.663 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$, RSD 值分别为 0.25%、

0.40%。实验结果表明所选工艺及处方合理可行,结果稳定且重现性较好。

2.3 体外释药行为考察

2.3.1 无膜溶出法^[12]

精密量取 NOB 微乳凝胶剂 1 mL 置于 5 mL 玻璃试管中,精密称重后加入 0.25 mL 的人工鼻液使其形成凝胶,再次精密称重,加入 2 mL 事先预热的接收液并开始恒温振荡(50 rpm),水浴温度为(34

± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,振幅为 2.5 cm。每 1.0 h 倒出全部释放介质,并用滤纸将试管外面擦干,称重并记录,前后 2 次的质量之差作为溶蚀量,补加等温等量的释放介质。样品用空白接收液稀释至线性范围内,过 0.45 μm 微孔滤膜并用 HPLC 测定含量,并分别将累积溶蚀率与累积释放率对时间作图,将累积释放率对累积溶蚀率作图,结果见图 2。

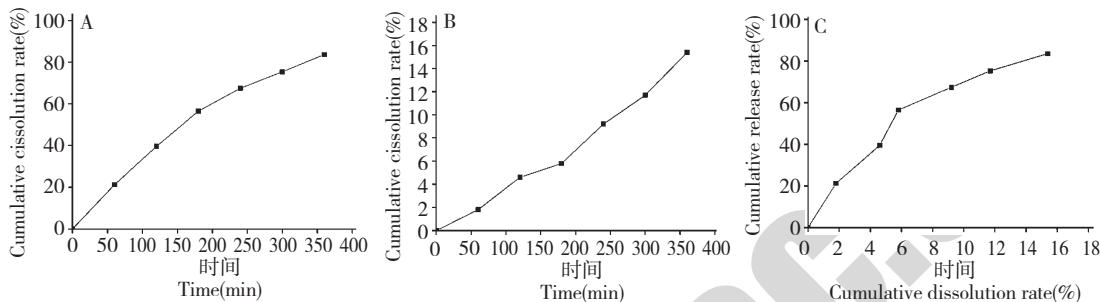


图 2 NOB 微乳凝胶的剂累积释放度曲线(A)、累积溶蚀曲线(B)及溶蚀与释放度相关曲线($n=3$)

Fig. 2 Cumulative release curve(A), cumulative dissolution curve(B) and correlation curve of erosion and drug release of nabiletin micromulsion gel($n=3$)

由上图可得,微乳凝胶的溶蚀量较少,但药物释放较为完全,且二者线性相关系数为 $r=0.9387$,呈非线性相关关系,表明 NOB 主要通过扩散而非溶蚀方式释药。

2.3.2 扩散池法

将半透膜(截留相当分子质量 8000 ~ 14000)固定在 Franz 扩散池装置上,向接收池加满空白接收液(30% 乙醇-生理盐水),药池中加入 1 mL NOB 微乳凝胶液并加入 0.25 mL 的人工鼻液使其形成凝胶。恒温水浴加热,温度为(34 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,磁力搅拌(200 rpm),分别按各时间点取样并补充同体积同温度的空白接收液。按“2.1.1”项下色谱条件进样,计算累积释放率并分别采用零级动力学方程、一

级动力学方程、Higuchi 方程 3 种常用数学模型进行拟合,结果拟合方程分别为 $Q=0.0544t+0.2619$ ($R^2=0.9355$); $\ln(1-Q)=0.3368t+2.5815$ ($R^2=0.9513$); $Q=0.2356t^{1/2}+0.0561$ ($R^2=0.9907$); 释放曲线见图 3。

由图 5 可知,NOB 微乳凝胶初始阶段释药较快,约 4 h 即释放 57%,而后阶段释药速率减慢,约 12 h 达到 86%。拟合结果表明该制剂体外释药行为更符合 Higuchi 方程($R^2=0.9907$),表明其具有一定的缓释特性。

3 讨论与结论

氮酮具有无色无味,皮肤毒性及刺激性较低,促渗效果好等特点,是目前国内外公认的一种优良促渗剂^[13]。因氮酮为非极性物质,需要将其先用表面活性剂等分散成乳滴状再加入到 DGG 水凝胶中。在预实验中,制备微乳凝胶剂时将氮酮与药物先溶解在油相中,加入混合表面活性剂后,再一并分散到含有凝胶基质的水溶液中,会出现破乳现象,破坏了微乳的稳定性。因此改为先将氮酮与混合表面活性剂混匀后再加入到油相中,可能是由于混合表面活性剂将氮酮包裹在内,避免了其与油相,凝胶基质接触,从而提高了制剂的稳定性。

药物从凝胶中释放主要是由药物在凝胶骨架中

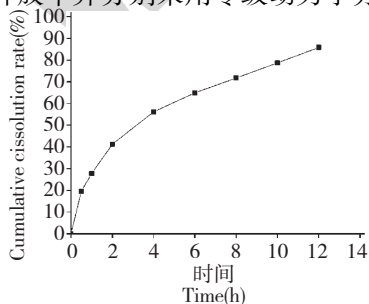


图 3 NOB 微乳凝胶剂体外释放曲线($n=3$)

Fig. 3 Cumulative drug release curves of nabiletin micromulsion gel in vitro ($n=3$)

的扩散速率与其自身的溶出速率所决定的。通过体外释药行为实验结果可知,NOB 微乳凝胶剂的溶蚀与释药成非线性关系($r = 0.9387$),遵从 Higuchi 方程,为骨架扩散基质。可能是由于将 NOB 制备成微乳均匀分散在三维网状结构的凝胶基质中,药物的亲水性及水溶性得到极大提高,当药物接触到接收介质时迅速溶解,通过水性孔道从凝胶骨架中扩散出来,骨架中药物的溶出速度大于药物的扩散速度。

在体外透皮吸收实验中,接收液的选择是尤为重要的,应尽可能满足所谓的“漏槽现象”。NOB 为低极性的脂溶性物质,难溶于水。本实验中以药物的溶解性能为依据,对生理盐水,PBS 缓冲液溶液及加入有机溶剂乙醇与表面活性剂吐温-80、PEG-400 的生理盐水溶液进行溶解度考察。其中 30% 乙醇-生理盐水对 NOB 的溶解度最高且满足“漏槽现象”,故选用其作为空白接收液。

通过体外释放度与透皮实验结果可发现,按正交实验优选的最佳处方制备的 NOB 微乳凝胶剂的累积释放率为 85.79%,累积透皮率为 78.45%,其释放的药物绝大部分能被吸收;而在前期实验中,未加透皮促渗剂时药物的透皮率仅有 18.37%,说明该复合促渗剂具有良好的促渗效果。对于中药制剂而言,油溶性促渗剂与水溶性促渗剂联合使用更易于药物通过粘膜进入体内,且处方中的冰片具有“芳香走窜,引药上行”之功效,即能增加血脑屏障的通透性,掩盖微乳凝胶剂中表面活性剂的不良气味,提高药物疗效及患者的顺应性^[14,15]。但鼻粘膜的促渗剂普遍存在粘膜毒性问题^[16],故筛选出的复合促渗剂还需进行进一步的鼻纤毛毒性及鼻粘膜刺激性实验。

参考文献

- Lu YH, Zhang CW, Bucheli P, *et al.* Citrus flavonoids in fruit and Chinese medicinal food ingredients in China. *Plant Foods Hum Nutr*, 2006, 61(2): 57-65.
- Lin N, Sato T, Takayama Y, *et al.* Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages. *Biochem pharmacol*, 2003, 65: 2065-2071.
- Murakami A, Nakamura Y, Torikai K, *et al.* Inhibitory effect of citrus nobiletin on phorbol ester-induced skin inflammation, oxidative stress, and tumor promotion in mice. *Cancer Res*, 2000, 60: 5059-5066.
- Wang GF(王光凤), Wang XC(王小晨), Xiao L(肖璘), *et al.* Anti-tumor effects of citrus flavonoid nobiletin. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38: 1694-1697.
- Nagase H, Yamakuni T, Matsuzaki K, *et al.* Mechanism of neurotrophic action of nobiletin in PC12D cells. *Biochemistry*, 2005, 44: 13683-13691.
- Li XY(李秀英), Zheng L(郑力), Jiang TY(姜同英), *et al.* Preparation of curcumin microemulsion-based gel for nasal use and determination of its properties. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2010, 27: 98-103.
- Wang F(王芳), Song XH(宋霄宏), Zhao B(赵斌), *et al.* Research on application of skin penetration enhancers in cataplasm. *Chin Pharm* (中国药业), 2008, 17(13): 1-3.
- Lu HY(卢浩扬), Lin YY(林媛媛), Che JX, *et al.* Optimization for formulation of Zhi Xiong San thermo-sensitive gel by central composite design-response surface method and study on characterization of its nasal mucosal permeability. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2014, 45: 1845-1849.
- Zhang CH(张成豪), Luo HF(罗华菲), Lin GB(林国钊), *et al.* Investigation of *in vitro* characterization of demethylphenidate transdermal patches. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2016, 47: 424-428.
- Chen WW(陈雯雯), Yun Q(云琦), Tao L(陶亮), *et al.* Release and transdermal behavior of fennel oil patch *in vitro*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 65-70.
- Wu QQ(吴青青), Yuan L(袁菱), Chen Y(陈彦), *et al.* Effects of gel matrixes and penetration enhancers on skin permeability of curcumin liposomal gel. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2013, 44: 686-689.
- Tao T(陶涛), Zhao Y(赵雁), Yue P(岳鹏), *et al.* Preparation of huperzine A nasal *in situ* gel and evaluation of its brain targeting following intranasal administration. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2006, 41: 1104-1110.
- Ferrante M, Andreetta A, Landoni MF, *et al.* Effect of different penetration enhancers on diclofenac permeation across horse skin. *Vet J*, 2010, 186: 312-315.
- Chen XM(陈新梅), Zhu JB(朱家璧), Sun WD(孙卫东), *et al.* Effect of absorption enhancer of borneol on ginsenoside Rg1 and the nasal ciliotoxicity. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2006, 41: 261.
- Zhao BS(赵保胜), Liu QD(刘启德). Comparison between borneol-induced opening of blood-brain barrier and its pathological opening. *Tradit Chin Drug Res Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2002, 13: 287-288.
- Li X(李希), Yi XX(易晓霞), Huang Y(黄嫣), *et al.* Screening of absorption enhancer for intranasal administration preparations of gastrodin. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19(24): 25-28.