

丙硫异烟胺肺靶向微球的制备及体内外评价

郭振勇^{1,2}, 张强^{1*} (1. 北京大学药学院药剂系, 北京 100191; 2. 首都医科大学附属北京胸科医院, 北京 101149)

摘要:目的 探索用聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)微球静脉给药实现抗结核药丙硫异烟胺肺部靶向输送的可行性。方法 利用单因素分析方法,筛选出丙硫异烟胺-乳酸-羟基乙酸共聚物微球制备的最佳工艺条件;利用浆法研究了载药微球体外释药的规律;利用 BALB/C 小鼠研究了丙硫异烟胺-乳酸-羟基乙酸共聚物微球静脉给药后的体内组织分布。结果 制得的微球形态圆整,微球平均粒径为(9.86 ± 1.38) μm,粒径在 7 ~ 15 μm 的占 81.53%;丙硫异烟胺的包封率为(32.70 ± 0.37)%,载药量为(8.48 ± 0.24)%;丙硫异烟胺-乳酸-羟基乙酸共聚物微球体外释药符合 Higuchi 方程($Q = 4.4303t^{1/2} + 7.7241$),释药较慢;体内分布试验表明,微球混悬剂静脉给药后丙硫异烟胺在肺中的浓度显著高于普通注射剂,而且保持较长时间。结论 微球制备工艺稳定,具有可重复性,微球在体外以及小鼠体内的释放结果和组织分布表明,微球有明显的缓释作用和肺靶向性。

关键词: 丙硫异烟胺; 聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物; 微球; 肺靶向

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001 - 2494(2012)22 - 1834 - 05

Preparation and Evaluation of Lung Targeting Microspheres for Protonamide *In Vitro* and *In Vivo*

GUO Zhen-yong^{1,2}, ZHANG Qiang^{1*} (1. *Pharmaceutical Department of Peking University, Beijing 100191, China*; 2. *Peking Chest Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 101149, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To testify the feasibility of targeted delivery of protonamide to lung through the iv administration of the biodegradable poly(lactic-co-glycollic acid) (PLGA) microspheres. **METHODS** Based on the single-factor study, the preparation of protonamide-PLGA microspheres was optimized. The surface morphology of the microspheres was observed by scanning electron microscope (SEM). The mean diameter and the size distribution of microsphere, the drug loading, the incorporation efficiency, drug release *in vitro*, stability and tissue distribution after intravenous administration were also evaluated, respectively. **RESULTS** Protonamide-PLGA microspheres were regular and spherical in shape. The average particle size was (9.86 ± 1.38) μm and over 81.53% of the microspheres was in the range of 7 - 15 μm. The drug loading and encapsulated ratio was (32.70 ± 0.37)% and (8.48 ± 0.24)%, respectively. The *in vitro* drug release could be well fitted by the Higuchi equation ($Q = 4.4303t^{1/2} + 7.7241, r = 0.9913$). Compared with the aqueous formulation, the drug level in lung of BALB/C mice in microsphere group was much higher, and also kept for longer time. **CONCLUSION** The protonamide-PLGA microspheres prepared in this study show significant sustained release and lung targeting effect.

KEY WORDS: protonamide; poly(lactic-co-glycollic acid); microspheres; lung targeting

结核病在全球有卷土重来之势,已成为威胁人类健康的重大公共卫生问题。结核病是目前单纯感染死亡率最高的传染性疾病,每年全球约 1 600 万人患病,200 万人死亡。具有新作用机制的抗结核药物在几十年来没有明显进展,而第一线的抗结核药物如异烟肼、利福平、乙胺丁醇、吡嗪酰胺长期存在不合理用药问题,从而造成结核分枝杆菌对第一线抗结核药物的耐药性越来越严重。2000 年全国结核病流调显示,结核分枝杆菌对利福平的耐药率已经达到 30%,而异烟肼的耐药率更高。近年来多药耐药性结核菌的出现使得结核病的治疗更具有挑战,这些因素导致二线抗结核药物被广泛应用于耐药结核病的治疗,丙硫异烟胺就是其中之一。但是丙硫异烟胺对中枢神经系统以及肝脏毒性较大,限制了它在临床的应用。理想的用药方式是利用现代

制剂技术,使之能够直接作用于肺部病灶并持续释放药物,以提高药物在肺部组织的浓度,降低中枢神经系统及肝脏组织的药物浓度,在多种新型制剂中,微球被认为是最有前途的靶向给药载体之一^[1-3]。

高分子材料的发展使得这种给药方式成为可能。文献[4-6]报道,聚乳酸-聚羟基乙基共聚物(PLGA)具有良好的生物相容性和生物可降解性,在体内可不断降解,持续释放药物,延长药物的作用时间,从而可以提高药物疗效并减少不良反应,PLGA 被越来越多地应用于长效控释制剂的研究。

本实验以 PLGA 为药物载体,研制一种肺靶向的丙硫异烟胺微球制剂,通过控制其粒径大小,使其在静脉注射后被肺毛细血管床机械性截留,从而提高肺部药物浓度;同时利用 PLGA 持续释药的特性,降低给药频度,提高患者的依从性。关于丙硫异烟

作者简介: 郭振勇,男,副主任药师 研究方向: 药剂学 * 通讯作者: 张强,男,教授,博士生导师 研究方向: 药剂学 Tel: (010) 82802679 E-mail: zqdodo@bjmc.edu.cn

• 1834 •

Chin Pharm J 2012 November, Vol. 47 No. 22

中国药学杂志 2012 年 11 月第 47 卷第 22 期

胺微球制剂未见文献报道。本实验主要报道丙硫异烟胺微球制剂的制备、体外性能考察和体内分布的研究结果。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 丙硫异烟胺(纯度 99%,上海信谊制药厂,批号:071003); PLGA(L/G = 50:50, $M_w = 10\ 000 \sim 15\ 000$,特性黏数 0.750~0.90,济南岱罡生物科技有限公司); 聚乙烯醇(PVA05-88,北京国人逸康科技有限公司,批号:090513); 泊洛沙姆 188(普朗尼克 F68,批号:125k0152, Sigma 公司); 无水乙醇、二氯甲烷、丙酮为分析纯; 聚山梨酯 20(北京拜耳迪生物公司)。

1.1.2 仪器 组织匀浆机(宁波新芝生物科技有限公司); Waters-600 系列高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),包括 600 四元梯度泵 A200 紫外检测器,717 自动进样器和 Empower 色谱工作站; 分析柱(Waters, SymmetryShieLd™, 5 μm, 3.9 mm × 150 mm), 预柱(Waters, SymmetryShieLd™, 5 μm, 3.9 mm × 20 mm); 涡旋振荡器(上海医科大学仪器厂); 冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); 冷冻高速离心机(上海安亭科学仪器厂); 超低温冰箱(SANYO 公司,日本); 扫描电子显微镜(Hitachi 公司, s4800, SEM, 日本); 光学显微镜(Olympus AH-2, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 丙硫异烟胺微球的制备 根据文献[7-8]采用乳化-溶剂挥发法制备微球。室温条件下,将处方量的丙硫异烟胺超声溶解于丙酮中形成 A 液,在具塞试管中加入处方量的聚山梨酯 20 与 PLGA(50:50),加入 2 mL 二氯甲烷,充分溶解后形成 B 液,将 A 液与 B 液混合均匀后,置于 30 °C 水浴中保持 10 min 使其充分升温,然后将混合后的有机相迅速注入搅拌下(2 000 r · min⁻¹)的 3% PVA 水溶液(20 mL)中,并持续搅拌 6 min。然后将转速降至 800 r · min⁻¹,在室温搅拌下挥发 4 h,除去二氯甲烷,使微球固化。所得的微球混悬液以 14 000 r · min⁻¹离心 10 min,弃去上清液,将所得到的沉淀在 -20 °C 保存,冷冻好后冻干,得到微球固体。

根据有关文献[9],有机相中载体材料的相对分子质量和浓度、外相中 PVA 的浓度、有机相加入水相的速度、搅拌速度、药物的溶解度和用量、药物及载体材料与有机溶剂的相互作用等对微球大小、均匀性、成球性、包封率等有直接影响。为此,笔者

固定部分因素,进行单因素分析,以微球的载药量、包封率、有效粒径(7~15 μm)^[10]为指标优化处方及工艺。

1.2.2 微球形态及粒度分布观察 用电子扫描显微镜和光学显微镜观察微球的外观形态,用粒度测定仪测定微球的粒径及其分布。取适量干燥微球,置于载玻片中央,加过滤蒸馏水一滴,用细钢针将微球仔细涂布均匀,盖上盖玻片,将其置于显微镜下检测,记录微球数目和各种粒径大小共 500 个,并用显微标尺测定微球的大小,计算平均粒径和分布。粒径分布按特定粒径范围内的数目与总数目之比计算。粒径范围的划定如下:0~10, 10~20, 20~30, 30~40, 40~50 μm。粒径按如下公式求得算术平均径:

$$d_{av} = \frac{\sum(nd)}{\sum n}$$

其中的 d_{av} 为算术平均径, d 为特定范围内的平均粒径, n 为特定范围内的微球数量。

1.2.3 微球载药量及包封率的测定 取一定量的载药微球,精密称定,先加入甲醇超声 5 min,定容,离心,取上清液,经 HPLC 测定游离的丙硫异烟胺含量。离心沉淀物加 1 mL 二氯甲烷溶解,然后加入 5 mL 甲醇与磷酸缓冲液的混合溶液(50:50),在通氮气的条件下漩涡搅拌 5 min,使二氯甲烷挥发完全至溶液澄清,最后用甲醇与磷酸缓冲液的混合溶液稀释,并采用 HPLC 测定其中丙硫异烟胺的含量,求得微球中药物包封率和载药量。

色谱条件:流动相:0.01 mol · L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 7.7, Na₂HPO₄ + KH₂PO₄)-甲醇(49:51); 流速:0.85 mL · min⁻¹,检测波长:335 nm,进样量 20 μL^[11]。

1.2.4 微球体外释药性能考察 利用浆法测定丙硫异烟胺微球及原料药的体外释放性能。精密称取丙硫异烟胺-PLGA 微球适量,置透析袋内(MWCO 3 500),紧密封口后混悬于 50 mL 释放介质中(PBS, pH 7.4,含 0.1% 聚山梨酯-80),在(37 ± 1) °C 恒温水浴振荡器上震荡,转速为 60 r · min⁻¹,定时取出上清液 5 mL,取 20 μL 直接进样,用 HPLC 测定丙硫异烟胺浓度(色谱条件同“1.2.3”),并补充等量新鲜释放介质,释放研究进行 3 次平行实验。同时,用释放介质将原料药制备成混悬液,置透析袋内,按上述方法测定原料药的释放情况,作为对照。

1.2.5 微球体内分布的考察 取 8 周龄 BABL/C δ 小鼠 78 只(32~38 g),随机分为微球组和对照组(用原料药配制)。按 50 mg · kg⁻¹ 剂量尾静脉注射

给药,在给药后 0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0、36.0、48.0、72.0 h 分别眼眶取血,然后每组处死 3 只小鼠,分别取肺、肝、脑等器官,滤纸吸干水分和血迹,精密称重。

血样本 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取血清置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存;分析时取出,室温融化后取待测血清 $100\text{ }\mu\text{L}$ 于 EP 管中,加入乙腈 $200\text{ }\mu\text{L}$ (含内标异烟胺 $0.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),涡旋震荡 1 min, $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清于进样瓶中。肺及脑置于 2 mL 甲醇中,肝置于 3 mL 甲醇中,匀浆,然后 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存;分析时取出,室温融化后取组织样品 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清于进样瓶中。

以 HPLC 测定生物样本中药物浓度,色谱条件同“1.2.3”,只有流动相的比例稍有改变,即 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液 (pH 7.7, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$) - 甲醇 (52:48)。

以靶向效率 (T_e) 来评价丙硫异烟胺原料药或丙硫异烟胺微球在各组织中的靶向性^[12]。

$$T_e = \frac{(\text{AUC}_n^\infty)_i}{\sum_{i=1}^n (\text{AUC}_n^\infty)_i} \times 100\%$$

其中 $(\text{AUC}_n^\infty)_i$ 表示靶向制剂在肺部的 AUC; $\sum_{i=1}^n (\text{AUC}_n^\infty)_i$ 表示各组织中微球的 AUC 之和。

2 结果

2.1 处方工艺优化

在单因素考察中,发现二氯甲烷及少量丙酮混合液作为有机相制备的微球具有较好的成球性;适当提高有机相与水相的比例、增加分散相的黏度、增大搅拌速率等可以使微球之间相互碰撞的阻力增大,从而使微球分散更均匀,凝聚现象减少,粒径也随之减小。

在微球粒径符合要求(平均粒径为 $10\text{ }\mu\text{m}$) 的基础上,固定搅拌转速 ($2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),稳定剂的种类(进口 PVA) 和分散介质(3% PVA 水溶液),进一步考察 PLGA 型号以及表面活性剂的种类、用量对微球载药量等性质的影响。实验结果表明,使用 PLGA 75/25(相对分子质量 15 000) 或 PLGA 50/50(相对分子质量 15 000) 2 种型号所制微球在粒径上没有差异,但随着表面活性剂的加入,PLGA 50/50 所制备的微球的载药量、包封率有显著提高,故采用 PLGA 50/50 作为最终载体材料;在筛选表面活性剂的种类和用量时发现,在含 3% 聚山梨酯 20 的二氯

甲烷中制备的微球的载药量和包封率最高,分别达到 8.48% 和 32.7%;另外,以载药量和包封率为指标进行评价,发现最理想的药物/载体(PLGA) 的质量比为 1:4。最终处方见表 1。

2.2 微球形态及粒径分布

丙硫异烟胺微球呈淡黄色粉末状,流动性好。采用扫描电子显微镜观察,扫描电镜照片见图 1。结果表明,载丙硫异烟胺的 PLGA 微球呈圆球形,表面有褶皱,微球内部实心,基本没有孔隙。微球平均粒径为 $(9.86 \pm 1.38)\text{ }\mu\text{m}$,在 $7\sim 15\text{ }\mu\text{m}$ 内的微球占总数的 81.53%。

2.3 微球的载药量与包封率

体外含量测定的标准曲线方程为: $Y = 29\,600X + 1\,340$ ($r = 0.999\,9$),其中 Y 为峰面积, X 为药物浓度。典型的 HPLC 图谱见图 2。

按优化工艺制备的丙硫异烟胺 PLGA 微球的载药量为 $(8.48 \pm 0.24)\%$,包封率为 $(32.70 \pm 0.37)\%$ 。

2.4 丙硫异烟胺微球体外释药考察

丙硫异烟胺 PLGA 微球的体外释药情况见图 3。图 3 结果可见,微球在最初的 24 h 释药量小于 30%,说明此微球系统具有一定的突释作用,但并不是很大;微球 4 d 累计释药量为 52.93%,而且释药曲线平缓,表明丙硫异烟胺 PLGA 微球具有长效微球制剂的缓释特征;相反,作为对照的丙硫异烟胺溶

表 1 丙硫异烟胺肺靶向微球的处方工艺筛选优化的最终处方

Tab. 1 The results of selected prescription of protonamide microspheres

Compounds	Dose
Protonamide	20 mg
Acetone	0.3 mL
PLGA(50/50)	80 mg
Tween 20	60 mg
Dichloromethane	2.0 mL
3% PVA(PVA05-88)	20 mL

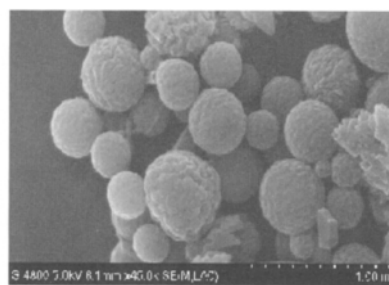


图 1 丙硫异烟胺-PLGA 微球的电镜照片 ($\times 1\,000$)

Fig. 1 The picture of protonamide-PLGA microspheres under SEM ($\times 1\,000$)

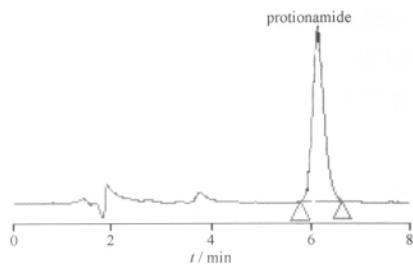


图2 丙硫异烟胺典型 HPLC 图谱
Fig. 2 The HPLC chromatogram of protonamide

液则释放极快, 1 h 释放近 90%。

分别将释药数据按照零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi 方程进行拟合, 分别得拟合优度 (r^2), 可用于判定曲线拟合情况, 结果见表 2。拟合结果表明, 当用 Higuchi 方程进行拟合时, 拟合优度 (r^2) 为 0.991 3, 而丙硫异烟胺溶液组的释药过程符合一级动力学方程。

2.5 全身给药后药物组织分布的考察

最终建立了体内药物浓度测定的标准曲线。血清标准曲线: 以质量浓度为横坐标 (ρ), 丙硫异烟胺与异烟胺峰面积比为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 求得回归曲线方程: $Y = 0.256\rho - 0.012$ ($r = 0.9998$)。结果表明, 丙硫异烟胺血药浓度在 $0.1 \sim 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好, 定量下限为 $0.025 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 方法回收率为 $(96.64 \pm 3.48)\%$ 。组织标准曲线: 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得标准曲线回归方程: $Y = 32700X - 324$ ($r = 0.9998$)。血清中丙硫异烟胺的典型 HPLC 图谱见图 4。小鼠尾静脉注射给予 18.80 mg 含药微球和 1.60 mg 药物溶液。给药 6 和 24 h 后丙硫异烟胺的组织分布情况见图 5。图 5 结果可见, 微球与溶液组的药物分布有较大差异。差别最大的是在肺部, 丙硫异烟胺制成微球后, 药物在肺中的分布显著增加; 6 h 时微球组比溶液组高出一倍以上, 而 24 h 时比溶液组高出更多, 这个结果表明, 微球不仅可以选择性地分布于肺部, 而且可以在肺部持续释药较长时间; 在血液和肝脏中, 6 h 时溶液组的药物分布更多, 但可能是由于溶液组药物消除较快, 24 h 各组织中微球组的药物分布都更多。

另外, 实验结果还表明, 在 0.5 ~ 72 h 内, 微球组中丙硫异烟胺在小鼠肺中不同时间点的浓度是原料药对照组中相同时间点的 2 倍以上 (结果未显示)。从各组织中药物浓度来看, 在不同的时间点, 丙硫异烟胺原料药对照组的药物在各组织分布相对比较均匀, 微球组丙硫异烟胺在肺中的浓度明显高

表 2 丙硫异烟胺和丙硫异烟胺微球的释药情况拟合过程

Tab. 2 Drug-deleted fitting procession of protonamide and microsphere

Group	Expression	Fitting equation	r^2
Microsphere			
Zero order equation	$Q = Bt + A$	$Q = 0.4204t + 14.523$	0.9549
First order equation	$\ln(100 - Q) = Bt + A$	$\ln(100 - Q) = -0.0063t + 4.45530.9792$	0.9913
Higuchi equation	$Q = Bt_{1/2} + A$	$Q = 4.4303t_{1/2} + 7.7241$	0.9913
Solution			
Zero order equation	$Q = Bt + A$	$Q = 1.0467t + 89.428$	0.9450
First order equation	$\ln(100 - Q) = Bt + A$	$\ln(100 - Q) = -0.1862t + 2.45910.9920$	0.9865
Higuchi equation	$Q = Bt_{1/2} + A$	$Q = 3.8568t_{1/2} + 86.541$	0.9865

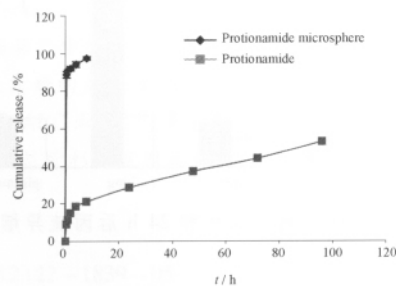


图3 丙硫异烟胺溶液和微球的累积释放百分数-时间曲线
图. $n = 3, \bar{x} \pm s$

Fig. 3 The cumulative release percent-time curve of Protonamide and microspheres. $n = 3, \bar{x} \pm s$

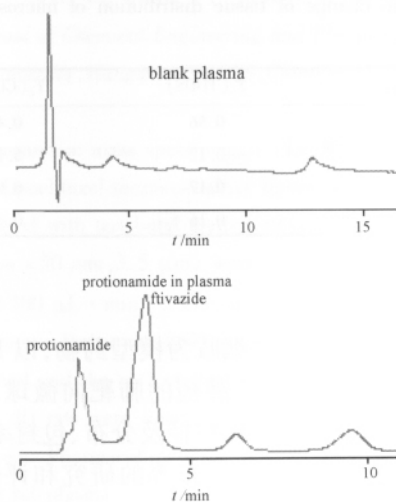


图4 丙硫异烟胺在血清中的图谱

Fig. 4 The HPLC chromatogram of protonamide in plasma

于其他组织, 达到了肺靶向的目的。其 T_e 的计算结果见表 3。

另外, 给药 72 h 后, 原料药对照组中各组织匀浆液中均已经测不到丙硫异烟胺, 而微球组中肝、肺、血浆中药物浓度还较高, 说明将丙硫异烟胺制成 PLGA 微球后, 同时具有很好的缓释作用。二组小鼠在给药后, 进食、精神状态未发现明显异常。

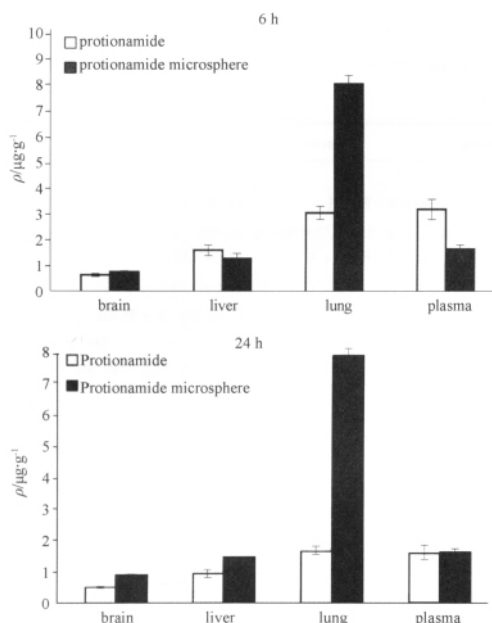


图5 小鼠尾静脉注射给药6和24h后丙硫异烟胺的组织分布. $n=3 \bar{x} \pm s$

Fig. 5 The distribution of protonamide in tissues injected after 6 and 24 h. $n=3 \bar{x} \pm s$

表3 小鼠静脉注射丙硫异烟胺靶向微球混悬液后体内靶向性的改变

Tab. 3 The change of tissue distribution of microsphere and protonamide

Tissues	T_e (TDDS)	T_e (CDDS)
Lung	0.56	0.42
Heptic	0.12	0.14
Brain	0.17	0.02
Plasma	0.16	0.42

3 讨论

3.1 本实验以丙硫异烟胺为模型药物,以 PLGA 为高分子载体材料制备了载药的肺靶向微球,分别进行了微球处方工艺、微球粒径及分布、包封率与载药量、体外释药、体内组织分布等的研究和评价,结果显示,所制备的丙硫异烟胺 PLGA 微球体外可以缓释药物,小鼠静脉给药后可选择性的分布于肺部组织中,并缓释药物。显然,对于耐药结核病治疗药物丙硫异烟胺来说,微球的肺靶向作用具有很好的临床意义,药物在作用部位长时间保持高浓度有利于肺结核的治疗。

3.2 由于药物主要集中在肺部,在其他器官中的分布比例会下降。笔者同时也注意到,24 h 时各组织中微球组的药物分布都更多。根据这一结果,如果

临床应用微球制剂时可以考虑降低总的药物剂量,使药物在肺部达到有效浓度的基础上,使其他器官的药物浓度足够低,这样可以减少丙硫异烟胺对其他器官的毒性作用,如丙硫异烟胺对中枢神经系统和肝脏的毒性,而且扩大其在临床的应用。

3.3 需要说明的是,微球制剂目前还未见应用于肺部疾病的治疗,原因之一是肺部的功能对人体太重要,微球制剂对肺部的影响需要全面而深入的评价^[13]。另外,对于本实验制备的丙硫异烟胺 PLGA 微球来说,其药效学和生物相容性等也有待于做进一步的研究和探讨。

REFERENCES

- [1] LIN Z H. Research progress of targeting agents[J]. *Strait Pharm J* (海峡药学) 2005, 17(2): 163-165.
- [2] LU M F, CHENG Y Q, LI L J *et al.* Progress of study on passive targeting of drug delivery system[J]. *Mater Rev* (材料导报), 2005, 19(9): 108-110.
- [3] WANG X C, HE J, YANG C M *et al.* Research progress of traditional Chinese western medicine passive targeting preparation[J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志) 2003, 23(4): 48-50.
- [4] ZHANG J Q, LU B. Study on pharmacokinetics and tissue distribution of carboplatin microspheres[J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志) 2001, 32(6): 251-253.
- [5] YOSHIDA A, MATUMOTO M, HSHIZUME H, *et al.* Selective delivery of rifampicin incorporated into poly(D, L-lactic-glycolic) acid microspheres after phagocytotic uptake by alveolar macrophages, and the killing effect against intracellular mycobacterium bovis Calmette-Guerin [J]. *Microbes Infect* 2006, 8: 2484-2491.
- [6] RAJESH P, ZAHOOR A, SADHNA S, *et al.* Nanoparticle encapsulated antitubercular drugs as a potential oral drug delivery system against murine tuberculosis [J]. *Tuberculosis*, 2003, 83(6): 373-378.
- [7] LIU S P, WANG D K, QIU Z B, *et al.* Preparation and characterization of isoniazid microspheres for lung targeting[J]. *Chin J Pharmaceutics* (中国药剂学杂志) 2006, 4(6): 259-264.
- [8] YAN Z, PEI Y Y. Preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation of actively lung targetable microspheres for paclitaxel delivery[J]. *Chin J Clin Pharm* (中国临床药学杂志) 2006, 15(4): 226-231.
- [9] LU B. New Techniques and New Drugs Form of Drugs(药物新剂型和技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998: 299-301.
- [10] ZEN F B, LU B, YANG H *et al.* Studies on gelatin microsphere loaded ligustrazine hydrochloride for lung target [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报) 1996, 31(2): 132-137.
- [11] FAN R, SHI J Y, YANG J J. Determination of the contents of protonamide tablet by HPLC[J]. *Drug Stand China* (中国药品标准) 2008, 9(1): 55-57.
- [12] PENG Y X, ZHUANG Y L, LIAO G T. Study on bone marrow targeting daunorubicin polybutylcyanoarylate nanopartieles [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志) 2000, 31(2): 57-61.
- [13] KREUTERL J, GELOERINA S, KAPICA I G, *et al.* Use of nanoparticles for cerebral cancer [J]. *Tumori*, 2008, 94: 271-277.

(收稿日期: 2011-12-22)