

恩替卡韦-PLGA缓释微球的处方优化及体外释药研究[△]

林凤云^{1,2*},罗易³,何雄伟^{4#}(1.重庆医药高等专科学校药学院,重庆 401331;2.重庆市药物制剂工程技术研究中心,重庆 401331;3.重庆市第九人民医院药剂科,重庆 400700;4.重庆市第九人民医院临床药学研究室,重庆 400700)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3549-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.28

摘要 目的:优化恩替卡韦聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)缓释微球的处方,并考察其体外释药特性。方法:采用乳化-溶剂挥发法制备恩替卡韦-PLGA缓释微球;以微球的包封率、载药量的综合评分为评价指标,设计正交试验优化投药量、药物-PLGA质量比、PLGA质量浓度、油相-水相体积比、聚乙烯醇(PVA)浓度,并进行验证试验;考察所制微球形态、粒径及体外释药情况(Q)。结果:最优处方为恩替卡韦 20 mg、恩替卡韦-PLGA 质量比 1:10、PLGA 质量浓度 200 mg/ml、油相-水相体积比 1:10、PVA 浓度 2%。所制恩替卡韦-PLGA 缓释微球的包封率为 $(86.52 \pm 3.25)\%$,载药量为 $(18.36 \pm 1.37)\%$,RSD 均小于 5.0% ($n=3$);其表面光滑圆整,平均粒径为 58.35 μm ; $Q_{10\text{ h}}$ 、 $Q_{96\text{ h}}$ 、 $Q_{360\text{ h}}$ 分别为 9.6%、42.9%、89.6%,体外释药符合 Higuchi 模型 ($r^2=0.9658$)。结论:优化处方所制恩替卡韦-PLGA 缓释微球的缓释性能良好。

关键词 恩替卡韦;缓释微球;聚乳酸-羟基乙酸共聚物;体外释药;正交试验;制备;处方优化

Study on the Formulation Optimization of Entecavir PLGA Sustained-release Microspheres and Its Drug Release *in vitro*

LIN Fengyun^{1,2}, LUO Yi³, HE Xiongwei⁴ (1.School of Pharmacy, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China; 2.Engineering Research Center of Chongqing Pharmaceutical Sciences, Chongqing 401331, China; 3.Dept. of Pharmacy, the Ninth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400700, China; 4.Dept. of Clinic Pharmacy Laboratory, the Ninth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the formulation of entecavir PLGA sustained-release microspheres, and explore its drug release *in vitro*. METHODS: PLGA sustained-release microspheres was prepared by emulsification-solvent evaporation method. Using composite score of entrapment efficacy and drug loading as indexes, orthogonal test was designed to optimize drug amount, drug-PLGA mass ratio, PLGA mass concentration, oil phase-aqueous phase volume ratio and polyvinyl alcohol (PVA) concentration; and validation test was also conducted. The prepared microsphere morphology, particle size and drug release *in vitro* were detected. RESULTS: The optimized formulation was entecavir 20 mg, entecavir-PLGA mass ratio 1:10, PLGA mass concentration 200 mg/ml, oil phase-aqueous phase volume ratio 1:10, and PVA concentration 2%; entrapment efficacy was $(86.52 \pm 3.25)\%$, drug loading was $(18.36 \pm 1.37)\%$, RSDs were lower than 5.0% ($n=3$); it was round and smooth in appearance with average particle size of 58.35 μm ; $Q_{10\text{ h}}$, $Q_{96\text{ h}}$ and $Q_{360\text{ h}}$ were 9.6%, 42.9% and 89.6%, and the drug release *in vitro* fitted to Higuchi model ($r^2=0.9658$). CONCLUSIONS: Entecavir PLGA sustained-release microspheres prepared by optimized formulation has good sustained-release performance.

KEYWORDS Entecavir; Microspheres; PLGA; Drug release *in vitro*; Orthogonal test; Preparation; Formulation optimization

恩替卡韦(Entecavir, ETV)是当前慢性乙型肝炎(CHB)患者抗病毒治疗的一线药物之一^[1-2],具有较强的抗乙肝病毒(HBV)能力^[3-4]。但ETV需每日口服,至少用药半年,疗程较长;同时为增强其吸收临床要求患者空腹用药,加剧了ETV的不良反应,如恶心、呕吐、腹痛、腹泻、腹部不适和消化不良等,导致患者依从性差,治疗效果不佳。另ETV停药后会出现反跳现象,导致疾病复发,甚至发生肝衰竭,预后不佳^[5-6]。本研究以生物可降解新型材料聚乳酸-羟基乙酸共聚物(Polylactic-co-glycolic acid, PLGA)为基质,将ETV制备成微球(MS)

△ 基金项目:重庆市医学科研计划项目(No.2013-2-153);重庆医药高等专科学校校级科研计划项目(No.ygz2013101)

* 讲师,硕士。研究方向:药物新剂型与新技术。E-mail: lin-fengyun2009@126.com

通信作者:副主任药师。研究方向:临床药学。E-mail: 1462683447@qq.com

制剂(ETV-PLGA-MS),以期延长ETV的释药时间、提高生物利用度、减少药品不良反应、减少给药次数及药物对胃肠道的刺激,进而提高药物治疗效果,改善患者的依从性,提高患者的生活质量。

1 材料

1.1 仪器

Series PC4060 高效液相色谱仪(美国兰博公司);DV215CD 电子天平(美国奥豪斯公司);S-3400N 电子扫描显微镜(日本 Hitachi 公司);XW-80 漩涡混合器(上海医科大学仪器厂);LS 230 激光粒度测定仪(美国 Beckman 公司);78-1 恒温磁力搅拌器(上海旌派仪器有限公司);TGL-16G 台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

ETV 原料药(湖北新银禾化工有限公司,批号:20150326,纯度:99.0%);PLGA[批号:20141128,丙交酯-乙交酯(LA-GA):

75:25, 相对分子质量:15 000];聚乙烯醇(PVA, 批号:20141021, 相对分子质量:13 000~23 000, 水解度:87%~89%)均购自美国Sigma-Aldrich公司;磷酸二氢钾、聚山梨酯80、叠氮化钠、二氯甲烷等均为市售分析纯或化学纯。

1.3 透析袋

MD25透析袋(北京索莱宝有限公司)。

2 方法与结果

2.1 ETV-PLGA-MS的制备^[7]

采用乳化-溶剂挥发法制备ETV-PLGA-MS。精密称取适量ETV和PLGA溶解于二氯甲烷中, 涡旋混匀, 得到油相。将油相在冰浴条件下缓慢滴加至含有乳化剂PVA的水溶液(水相)中, 同时以1 000 r/min搅拌20 min, 再在室温以400 r/min继续搅拌6 h, 挥发有机溶剂, 静置沉淀。纯化水离心洗涤3次, 减压干燥48 h, 得到粉末状固体ETV-PLGA-MS。

2.2 ETV含量测定

2.2.1 色谱条件 采用高效液相色谱法测定ETV含量^[8-9]。色谱柱:Diamonsil ODS-C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.02%(V/V)的三氟乙酸水溶液-乙腈(95:5);流速:1.0 ml/min;检测波长:254 nm;进样量:20 μl;柱温:30 ℃。在该色谱条件下, 理论板数按ETV计不低于3 000。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称取ETV 25 mg, 置于100 ml量瓶中, 加流动性适量, 超声溶解并定容, 摆匀, 制成250 μg/ml的贮备液。精密移取0.1、0.3、0.5、0.8、1.0、3.0、5.0 ml的贮备液, 置于25 ml量瓶中, 流动相定容, 得到质量浓度分别为1、3、5、8、10、30、50 μg/ml的系列溶液。精密量取上述溶液各20 μl, 按“2.2.1”项下条件测定峰面积。以溶液质量浓度(c)对峰面积(A)进行线性回归, 得回归方程 $A=267.634c+18.523$ ($r^2=0.9998$)。结果表明, ETV质量浓度在1~50 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度考察 精密度量取高、中、低质量浓度(10、5、1 μg/ml)的ETV溶液, 按“2.2.1”项下条件, 同日内测定5次, 考察日内精密度;连续测定5 d, 考察日间精密度。结果显示, 低、中、高质量浓度ETV溶液的日内RSD分别为0.22%、0.54%、0.36%($n=5$), 日间RSD分别为1.10%、0.75%、0.99%($n=5$)。

2.2.4 准确度试验 精密度量取高、中、低质量浓度(10、5、1 μg/ml)的ETV溶液, 按“2.2.1”项下条件测定峰面积, 根据回归方程计算对应的质量浓度, 以测得值与加入量之比计算回收率。结果, 高、中、低质量浓度的ETV溶液的平均回收率分别为99.81%、99.56%、99.05% (RSD分别为0.48%、0.44%、0.35%, $n=3$), 表明该方法的准确度良好。

2.3 载药量和包封率的测定

精密称取约20 mg ETV-PLGA-MS, 置于离心管中, 加入5 ml流动相, 涡旋使其充分溶解。混悬液以3 500 r/min(离心半径6.5 cm)离心10 min, 重复3次, 合并上清液, 用流动相定容至25 ml。按“2.2.1”项下条件测定峰面积, 根据回归方程计算ETV质量浓度, 按公式计算载药量和包封率。载药量(%)=MS中药物的质量/MS的质量×100%, 包封率(%)=MS中药物的质量/投药量×100%。

2.4 ETV-PLGA-MS的处方优化

根据单因素试验结果, 选取对MS制备和性质影响较显著的5个因素作为考察对象, 即投药量(A, mg)、药物-PLGA质量比(B)、PLGA质量浓度(C, mg/ml)、油相-水相体积比(D)、PVA浓度[E, % (mg/100 ml)]。每个因素选择4个水平, 按正交设计表L₁₆(4⁵)设计正交试验方案。以MS的载药量(Y₁)、包封率(Y₂)为考察指标, 根据各指标因素对制备工艺的影响大小分配权重系数, 计算两个因素的综合评分 $Y=50\% \times Y_1 + 50\% \times Y_2$, 以其进行综合评价^[10], 优选处方。因素与水平见表1, 正交试验设计与结果见表2, 方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素				
	A, mg	B	C, mg/ml	D	E, %
1	10	1:5	100	1:5	0.5
2	20	1:10	150	1:10	1
3	30	1:15	200	1:20	1.5
4	40	1:20	250	1:30	2

表2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	E	Y ₁ , %	Y ₂ , %	Y, %
1	1	1	1	1	1	58.03	5.92	31.98
2	1	2	2	2	2	82.88	8.67	45.78
3	1	3	3	3	3	73.25	7.97	40.61
4	1	4	4	4	4	69.19	6.95	38.07
5	2	1	2	3	4	82.35	7.32	44.84
6	2	2	1	4	3	87.76	19.86	53.81
7	2	3	4	1	2	54.75	5.28	30.02
8	2	4	3	2	1	72.06	7.23	39.64
9	3	1	3	4	2	78.13	8.45	43.29
10	3	2	4	3	1	75.38	20.32	47.85
11	3	3	1	2	4	73.95	7.47	40.71
12	3	4	2	1	3	67.46	4.53	36.00
13	4	1	4	2	3	76.34	6.97	41.66
14	4	2	3	1	4	88.47	16.59	52.53
15	4	3	2	4	1	54.66	8.87	31.76
16	4	4	1	3	2	53.28	7.61	30.44
K_1	39.11	40.44	39.24	37.63	37.81			
K_2	42.08	49.99	39.60	41.95	37.38			
K_3	41.96	35.78	44.02	40.94	43.02			
K_4	39.10	36.04	39.40	41.73	44.04			
R	2.98	14.22	4.78	4.31	6.66			

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

误差来源	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	P
A	34.04	3	0.71	9.28	
B	529.34	3	11.02	9.28	<0.05
C	63.95	3	1.33	9.28	
D	48.04	3	1.00	9.28	
E	143.27	3	2.98	9.28	
误差	48.04	3			

由表2和表3可知, 各因素对Y的影响大小顺序为B>E>C>D>A, 其中B有显著影响($P<0.05$)。确定最优处方为A₂B₂C₃D₂E₁, 即ETV投药量为20 mg, ETV-PLGA质量比为1:10, PLGA质量浓度为200 mg/ml, 油相-水相体积比为1:10, PVA浓度为2%。

2.5 验证试验

按照最优处方制备3批ETV-PLGA-MS, 测定其包封率、载药量。结果, ETV-PLGA-MS的平均包封率为(86.52±3.25)%、平均载药量为(18.36±1.37)%、Y的平均值为(52.44±4.95)%、RSD均小于5.0%($n=3$), 表明本处方工艺稳定、重现性好。

2.6 ETV-PLGA-MS的形态观察和粒径分布考察

以扫描电子显微镜观察优化处方制备的ETV-PLGA-MS的形态, 以激光粒度测定仪测定其粒径大小及其分布。结果,

ETV-PLGA-MS 球形圆整, 表面光滑、致密、无裂缝, 平均粒径为 58.35 μm , 粒径分布为 10.3~92.2 μm , 可见其粒径分布较窄。ETV-PLGA-MS 的形态图见图 1, 粒径分布图见图 2。

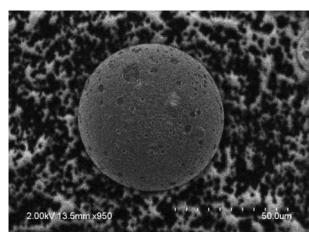


图 1 ETV-PLGA-MS 的形态图($\times 950$)

Fig 1 Morphological of entecavir PLGA sustained-release microspheres($\times 950$)

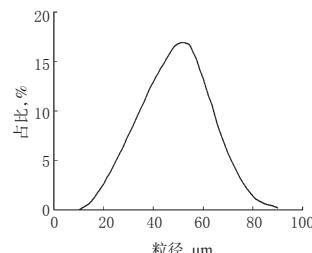


图 2 ETV-PLGA-MS 的粒径分布图

Fig 2 Particle size distribution of entecavir PLGA sustained-release microspheres

2.7 ETV-PLGA-MS 体外释放性能^[11]

取优化处方制备的干燥 ETV-PLGA-MS 30 mg, 精密称定, 置于透析袋中, 加 2 ml 释放介质, 释放介质为磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4, 含 0.02% 叠氮钠和 1% 聚山梨酯 80)。释放样品置于装有适量释放介质的具塞锥形瓶中, 加入磁力搅拌子, 于(37 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 的恒温磁力搅拌器中, 以转速 50 r/min 搅拌。分别于 0.5、1、10、24、48、72、96、120、168、216、312、360、432、480、600、720 h 各取出 1 ml(同时补加等量新鲜同温释放介质), 按“2.2.1”项下条件测定峰面积, 计算累积释放度(Q)。ETV-PLGA-MS 的体外释放曲线见图 3。

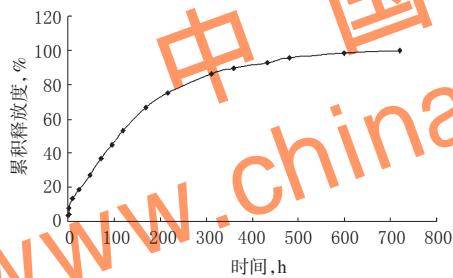


图 3 ETV-PLGA-MS 的体外释放曲线

Fig 3 Drug release *in vitro* profile of entecavir PLGA sustained-release microspheres

由图 3 可知, ETV-PLGA-MS 的 $Q_{10\text{h}}$ 为 9.6%, 表明无突释现象; $Q_{96\text{h}}$ 、 $Q_{360\text{h}}$ 分别为 42.9%、89.6%, 说明 ETV-PLGA-MS 有较好的缓释性能。将试验结果按零级、一级、Higuchi 方程进行拟合。结果, ETV-PLGA-MS 的释放更符合 Higuchi 方程, 拟合结果见表 4。

表 4 ETV-PLGA-MS 的体外释药方程拟合结果

Tab 4 Fitting results of drug release *in vitro* of entecavir PLGA sustained-release microspheres

模型	拟合方程	r^2
零级	$Q=0.1453t+22.563$	0.8271
一级	$\ln(1-Q)=-0.0089t+0.2629$	0.8786
Higuchi	$Q=4.1927t^{1/2}+3.1758$	0.9658

3 讨论

注射用缓释微球是近年来发展的一种新剂型, 即将药物分散或吸附在高分子聚合物基质中, 形成粒径为 1~300 μm 的固体颗粒分散体系, 可在体内缓释 30 d 以上。注射用微球作

为一种新型给药技术, 其优点主要有:(1)通过调节和控制药物的释放速度实现长效给药的目的;(2)注射入组织内, 可达到靶向治疗的目的, 且微球与某些细胞组织有特殊的亲和性, 能被组织器官的网状内皮系统所吞噬, 从而实现靶向性;(3)减少药物对胃肠的刺激, 改善首关效应, 提高生物利用度, 降低给药剂量^[12~13]。

PLGA 是一种性能优良的合成高分子材料, 可作为多种药物缓释载体, 其优点包括生物相容性好、安全性高^[14~16]。

本研究以乳化-溶剂挥发法制备 ETV-PLGA-MS, 结果发现, 其具有较高的载药量和包封率, 微球形态圆整, 粒径均匀, 可缓释 480 h 以上, 体外释放符合 Higuchi 模型, 符合注射用缓释微球的体外释放要求。

鉴于注射用微球制剂的质量要求较高, 在今后的工作中, 还应对该微球的体内药动学、药效学和注射刺激性作进一步研究, 并考察丙交酯、乙交酯不同比例及不同分子质量的 PLGA 对药物释放和缓释性能的影响, 进一步阐明 ETV-PLGA-MS 的缓释特性, 探讨其作为缓释注射剂治疗 HBV 感染的可行性。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南: 2010 年版[J]. 中国预防医学杂志, 2011, 12(1): 1.
- [2] Liaw YF, Kao JH, Piratvisuth T, et al. Asian-pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update[J]. Hepatol Int, 2012, 6(3): 531.
- [3] Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy [J]. Hepatology, 2009, 49(5): 1 503.
- [4] 杨洁. 恩替卡韦的药效学特征及抗乙型肝炎病毒试验荟萃[J]. 中国药房, 2015, 26(8): 1 150.
- [5] 恩替卡韦临床应用专家委员会. 恩替卡韦临床应用专家共识: 2015 年更新[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(1): 32.
- [6] 刘碧霞, 张伦理, 李小鹏, 等. 慢性乙型肝炎不规范停用恩替卡韦复发后再次恩替卡韦治疗的效果[J]. 广东医学, 2015, 36(8): 1 263.
- [7] 张华, 王翔, 王学清, 等. 利培酮微球的制备和体外性质评价[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(20): 2 423.
- [8] 刘岩, 孙英华, 王尚, 等. HPLC 法测定恩替卡韦的平衡溶解度和表观油水分配系数[J]. 中国药剂学杂志, 2014, 12(6): 201.
- [9] 李瑞芳, 程秀民. 自制恩替卡韦片与上市对照制剂体外溶出度对比研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1 333.
- [10] 周雪, 薛雨晨, 贺智勇, 等. 阿司匹林 PEG-PLGA 缓释微球的制备以及体外释药的考察[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(22): 1 889.
- [11] 郭宁子, 辛中帅, 杨化新. 微球制剂质量控制研究进展[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(18): 2 115.
- [12] Jóhannesson G, Stefánsson E, Loftsson T. Microspheres and nanotechnology for drug delivery[J]. Dev Ophthalmol, 2016, doi: 10.1159/000434693.
- [13] Kleinstreuer C, Feng Y, Childress E. Drug-targeting methodologies with applications: a review[J]. World J Clin Cases, 2014, 2(12): 742.

超临界CO₂萃取干姜的工艺优化[△]

冯青云^{1,2*},周昌妮¹,陈书慧¹,徐如冰¹,田效志¹,贾永艳^{1,3#}(1.河南中医学院药学院,郑州 450046;2.石家庄医学高等专科学校中药系,石家庄 050000;3.呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心,郑州 450046)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3552-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.29

摘要 目的:优化超临界CO₂萃取干姜的工艺条件。方法:采用均匀设计法,以姜酚类成分6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚的含量和干姜油萃取率的综合评分为指标,考察萃取压力、萃取温度、萃取时间3个因素对萃取效果的影响;同时进行验证试验。结果:优化的萃取工艺为压力25 MPa、温度30 ℃、时间2 h;验证试验中干姜油的平均萃取率为3.2%,综合评分为1.874 2(RSD=0.65%,n=3);实测值与预测值的相对偏差为0.6%。结论:所得最优萃取工艺条件稳定可行,具有温度低、耗时短等优点。

关键词 干姜;超临界CO₂萃取;均匀设计;姜酚类成分;提取率

Technology Optimization of Supercritical CO₂ Extraction from *Zingiberis rhizoma*

FENG Qingyun^{1,2}, ZHOU Changni¹, CHEN Shuhui¹, XU Rubing¹, TIAN Xiaozhi¹, JIA Yongyan^{1,3}(1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Dept. of TCM, Shijiazhuang Medical College, Shijiazhuang 050000, China; 3. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the technology of supercritical CO₂ extraction from *Zingiberis rhizoma*. METHODS: With the comprehensive score of the contents of 6-ginger phenol, 8-ginger phenol and 10-ginger phenol and the extraction rate of the oil from *Z. rhizoma* as the index, uniform design method was adopted to investigate the effects of extraction pressure, extraction temperature and extraction duration on the extraction result; verification tests were conducted. RESULTS: The optimal conditions were as follows as the extraction pressure of 25 MPa, extraction temperature of 30 ℃ and extraction duration of 2 h. In the verification tests, the average extraction rate of the oil from *Z. rhizoma* was 3.2% (n=3), and the comprehensive score was 1.874 2 (RSD=0.65%, n=3), with the relative deviation of 0.6% between the measured value and the predicted value. CONCLUSIONS: The optimal extraction technology is stable and feasible, with the advantages of low temperature, short duration.

KEYWORDS *Zingiberis rhizoma*; Supercritical CO₂ extraction; Uniform design; Ginger phenolic components; Extraction rate

干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc.的干燥根茎,具有温中散寒、燥湿消痰、回阳通脉之功效,主要用于改善脘腹冷痛、呕吐泻泄、肢冷脉微、痰饮喘咳等症状^[1]。干姜含15%姜辣素及少量挥发油,其中姜辣素主要包括6-姜酚及其分解产物姜烯酚、姜酮和姜萜酮等,具有抗氧化、抑制胃黏膜损伤、增加胆汁分泌等作用^[2]。一般来说,超临界萃取得到的萃取物成分的量和挥发性成分种类远远多于水蒸气蒸馏法^[3]。因此,本试验以干姜中姜酚类成分6-姜酚、10-姜酚、8-姜酚的含量和干姜油萃取率的综合评分为指标,采用均匀设计法筛选超临界萃取干姜的最佳工艺。

1 材料

1.1 仪器

DIONEX Summit 系统高效液相色谱(HPLC)仪,包括DIONEX-600 泵、TCC-100 柱温箱、PDA-100 检测器(美国戴安公司);AE 240 十万分之一天平(德国梅特勒公司);KQ-100 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);FW-200 高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司);HA221-50-06 超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取有限公司)。

1.2 药品与试剂

二氧化碳(CO₂,纯度:≥99.5%)购自河南源正科技发展有限公司;6-姜酚对照品(批号:140124,纯度:≥98%)购自四川省维克奇生物科技有限公司;8-姜酚对照品(批号:1508240,

- [14] Gala-García A, Carneiro MB, Silva GA, et al. In vitro and in vivo evaluation of the biocompatibility of a calcium phosphate/poly (lactic-co-glycolic acid) composite[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2012, 23(7):1 785.

- [15] Ford Versypt AN, Pack DW, Braatz RD. Mathematical modeling of drug delivery from autocatalytically degradable PLGA microspheres: a review[J]. *J Control Release*, 2013, 165(1):29.

- [16] Lin CY, Lin SJ, Yang YC. Biodegradable polymeric microsphere-based vaccines and their applications in infectious diseases[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2015, 11(3): 6 500.

(收稿日期:2016-03-07 修回日期:2016-04-07)

(编辑:邹丽娟)

△基金项目:河南省科技攻关计划项目(No.092102310112);呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心基金项目(No.20130012)

*硕士。研究方向:药物制剂新技术、新剂型及新药。E-mail: 417018951@qq.com

#通信作者:教授。研究方向:药物制剂新技术、新剂型及新药。E-mail: hnzyjyy@126.com