

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.6.05

林可霉素微球制剂在鹅体内的药代动力学研究

王丽坤,张 备,金振华,刘雪松,鹿凌岩,李 烨,张 艳,朱庆贺,史同瑞*

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院,黑龙江齐齐哈尔 161005)

[收稿日期]2020-12-07 [文献标识码]A [文章编号]1002-1280(2021)06-0029-06[中图分类号]S859.79

[摘 要] 为了解林可霉素微球制剂在动物机体内的药代情况,在鹅体内进行了两种剂型药物的药代动力学比较研究。试验选取健康鹅分为两组,即对照组肌肉注射 30% 林可霉素水溶液,试验组肌肉注射 30% 林可霉素微球溶液,0.5 mL/只。选取 0~72 h 内的不同时间点采集鹅血浆样品,应用高效液相色谱法(HPLC)对鹅血浆中林可霉素的含量进行检测。结果显示:试验组 24 h 内血液中林可霉素浓度维持在 0.3 mg/L 以上,72 h 内血浆中林可霉素含量在 0.145 mg/L 以上;对照组 24 h 后血浆中检测不到林可霉素。结论为林可霉素微球制剂较林可霉素水溶液的药效持久,具有缓释性能并能够在较长时间内具有抑菌作用。

[关键词] 林可霉素微球制剂;鹅;药代动力学;高效液相色谱法

Study on the Pharmacokinetics of Lincomycin Microsphere Preparation in Goose Blood

WANG Li-kun,ZHANG Bei,JING Zhen-hua,LIU Xue-song,LU Ling-yan,

LI Ye,ZHANG Yan,ZHU Qing-he,SHI Tong-rui*

(Branch of Animal Husbandry and Veterinary of Heilongjiang Academy Sciences,Heilongjiang,Qiqihar 161005,China)

Corresponding author: SHI Tong-rui,E-mail:systr@sing.com

Abstract: In order to understand the pharmacokinetics of lincomycin microsphere for geese, a comparative study of two dosage forms pharmacokinetics was carried out. In the experiment, healthy geese were divided into two groups, each goose in the control group was injected with 0.5 mL 30% lincomycin solution intramuscularly, and each goose in the test group was injected with 0.5 mL 30% lincomycin microsphere solution intramuscularly. Goose plasma samples were collected at different time points of 0~72 h, and the content of lincomycin in goose plasma was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the lincomycin concentration in blood of the test group was above 0.3 mg/L within 24 h and 0.145 mg/L within 72 h, respectively. In the control group, lincomycin concentration in blood was not checked after 24 hours. It was concluded that lincomycin microsphere was more effective than lincomycin solution. Lincomycin microsphere had slow release property and bacteriostatic effect for a longer time.

Key words: lincomycin microsphere;the goose;pharmacokinetics;High performance liquid chromatography

作者简介:王丽坤,高级兽医师,从事动物寄生虫疾病防治及兽药研发。

通讯作者:史同瑞。E-mail:systr@sing.com

微球制剂是近年发展起来的一种新型载药系统,是利用具有生物相容性好、无毒、可降解的壳聚糖(chitosan,CS,CHIT)和海藻酸钠(sodiumalginate,SA,ALG,NaAlg)等为材料制备的藻酸盐药物包封载体。微球制剂具有提高药物稳定性、缓释、控释与靶向释放的作用,具有提高药物的生物利用度等优点,因此,微球作为药物载体的开发应用日趋广泛^[1,2]。壳聚糖是一种天然的碱性直链阳离子聚合多糖,具有生物相容性好,在体内能被多种酶生物降解,无毒、无抗原性、资源丰富、经济价廉等优点^[3]。海藻酸钠是从天然褐藻中提取的一种线性阴离子高分子多糖,具有良好的稳定性、增稠性、成膜性、螯合性、絮凝性和吸附性能^[4]。壳聚糖能够与海藻酸钠阴离子聚电解质发生络合反应,形成由聚电解质络合物构成的高分子半透膜,利用该特性可制成载药微球,从而实现药物的缓释、控释等功能。

林可霉素(Lincomycin),又称洁霉素,是林可链霉素(*Streptomyces lincolnensis*)产生的林可酰胺类抗生素,能够抑制细菌细胞蛋白质的合成,其盐酸盐为白色结晶粉末,微臭、味苦,易溶于水,在乙醇中略溶。主要用于治疗革兰氏阳性菌引起的感染性疾病,特别是葡萄球菌、链球菌及厌氧菌的抗菌作用显著^[5]。由于其对组织和细胞的穿透力强,应用方便,不需要做皮试,且价格低廉,因此,在畜牧养殖业疾病的预防和治疗中应用比较广泛^[6-7]。本研究结合林可霉素和载药微球的特性,制备了林可霉素微球制剂,并进行了鹅体内药代动力学的检测,证明林可霉素微球具有缓释性能,从而本制剂可以延长林可霉素的作用时间,更大限度地发挥林可霉素的抑菌抗炎作用。

1 材料

1.1 试剂 林可霉素标准品(含量为 84.9%,CAS 号为 K0102002,中国兽医药品检查所);甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);四硼酸钠(分析纯,天津市东丽区天大化学试剂厂)。

1.2 仪器 高效液相色谱仪(LC-20AT SPD-20A,SHIMADZU,岛津公司);InertSustain C18 色谱

柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm);纯水仪(PT-40,锐思捷水纯化技术有限公司);电子分析天平(MS104TS/02 型,梅特勒-托利多有限公司);试验室 pH 计(PHS-3E,上海仪电科学仪器股份有限公司);超声波清洗器(KQ5200B,昆山市超声仪器有限公司);隔膜真空泵(GM-0.33A,)氮吹仪(N-EVAP112,杭州奥盛仪器有限公司)。

1.3 动物与药品 试验动物为健康雌性霍尔多巴吉鹅 20 只,年龄 120 日龄,平均体重 4 kg/只,由黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院试验鹅厂提供。试验鹅常规饲养,在 1 月内未使用药物。30% 林可霉素微球制剂、30% 林可霉素注射液均由黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院兽药研究室自制。

2 方法

2.1 给药 健康试验鹅随机分为试验组和对照组,每组 10 只。试验组一次性胸部肌肉注射 30% 林可霉素微球溶液,0.5 mL/只,对照组一次性肌内注射 30% 林可霉素注射液,0.5 mL/只。试验期间,按照常规饲养方式自由采食和饮水,饲料中不含抗菌药物。

2.2 样品采集 两组试验鹅在给药后 0、1、2、4、8、16、24、28、32、48、54、72 h 进行采取血样,每次每只鹅翅下静脉采血 2 mL,分别置于肝素钠抗凝管中,3000 r/min 离心 5 min,取上清血浆置于离心管中,冷冻备用。

2.3 样品前处理 取冷冻保存的血浆样品,自然解冻,摇匀,取 1 mL 血浆样品于 10 mL 聚丙烯离心管中,加入 2 mL 乙腈,涡旋混匀后置于 4 ℃ 离心机中,3000 r/min 离心 10 min,转移上清置新的离心管中,沉淀中再次加入 2 mL 乙腈,混匀,离心,重复提取一次,合并两次提取液,50 ℃ 水浴中氮气吹干,吹干后加入 1 mL 流动相混匀,溶解混匀后利用孔径为 0.22 μm 的针式过滤器进行过滤,过滤两次后装入上样瓶中供高效液相色谱测定。

2.4 色谱条件 流动相:0.1 mol/L 硼砂溶液(用磷酸调节 pH 值至 6.0) - 甲醇 - 乙腈(67:33:2);色谱柱:C₁₈(150 mm × 4.6 mm,5 μm);流速:0.8 mL/min;检测波长:204 nm;柱温:25 ℃;进样量:20 μL。

2.5 检测方法考察

2.5.1 血药浓度标准曲线建立通过空白添加的试验方法进行检测 盐酸林可霉素标准储备液的配制:精密称取盐酸林可霉素标准品 20 mg,以甲醇定容至 10 mL 容量瓶中,制得浓度 2.0 mg/mL 储备液。分别精密吸取适量标准储备液,以流动相稀释成 5 μg/mL、10 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、500 μg/mL 的标准工作液,置 4 ℃ 冰箱中保存。分别采集健康鹅空白血浆 0.9 mL,依次加入不同浓度标准工作液各 0.1 mL,使工作液终浓度为 0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、50.0 μg/mL。每个浓度处理 3 个样品,每个样品重复进样 3 次,以待测物浓度为横坐标,以待测物色谱图的峰面积为纵坐标,建立标准曲线。

2.5.2 方法专属性 取一定浓度的盐酸林可霉素标准工作液 20 μL 进样,得到无血浆基质影响的盐酸林可霉素色谱图;取空白血浆 1 mL,除不加标准工作液外,按 2.5.1 项方法获得空白样品的色谱图;将一定浓度的盐酸林可霉素溶液加入鹅空白血浆中,依同样方法操作,获得相应色谱图;同样方法获得鹅给药后血浆样品色谱图,考察血浆中内源性物质对盐酸林可霉素测定结果有无干扰。

2.5.3 精密度测定 分别在同一天和连续 3 d 内制备浓度分别为 1.0、5.0 μg/mL 和 25.0 μg/mL 的血浆样品各 3 个,处理后进样 20 μL 进行测定,连续测定 3 d,并与标准曲线同时进行,依当日的标准曲线计算样品浓度,计算日内与日间精密度,回收率 = 实测浓度/理论浓度 × 100%。

2.5.4 回收率测定 分别配制盐酸林可霉素浓度为 1.0、5.0 和 25.0 μg/mL 的血浆样品各 3 个,每个样品进样 20 μL,以提取后的盐酸林可霉素的峰面积与空白血浆提取后加入相应浓度标准工作液处理后的样品进样所得色谱图峰面积之比,考察样品的回收率。

2.6 样品测定 每组每个时间点的 10 份血浆样品进行平行处理,测定其中林可霉素含量,采用 HPLC 检测,外标法测定,结果取平均值。

2.7 数据处理与统计分析 分别将实测的鹅血浆中林可霉素血药浓度 - 时间数据采用 DAS2.1.1 版本药动力学分析软件进行数据统计分析,得出所需

要的药物代谢动力学参数,计算相对生物利用度。

3 结果与分析

3.1 线性关系考察结果 盐酸林可霉素血浆标准品浓度及其测得的峰面积见表 1。以盐酸林可霉素血浆药物浓度 (mg/L) 为横坐标 (X),盐酸林可霉素的峰面积 (AU) 为纵坐标 (Y),绘制标准曲线。如图 1 所示,血浆中盐酸林可霉素在 0.5 ~ 50 μg/mL 范围内呈良好的线性相关,标准曲线相关系数 (R^2) 大于 0.999,线性方程为: $y = 39172.2x - 4705.14$ 。

表 1 林可霉素血浆样品浓度及测得峰面积
Tab 1 Lincomycin plasma sample concentration and measured peak area

血药浓度 (μg/mL)	盐酸林可霉素峰面积 (AUC)
0.5	17806 ± 762
1.0	35081 ± 1402
10	393288 ± 18264
20	764652 ± 32645
50	1958247 ± 118234

3.2 方法专属性考察 以一定浓度的 20 μL 盐酸林可霉素标准工作液进样检测后,得色谱图 (图 2),可得盐酸林可霉素的保留时间为 10.686 min。由空白血浆色谱图 (图 3)、空白血浆加标准品色谱图 (图 4) 可知:在本试验分析条件下,盐酸林可霉素有良好的分离度,血浆内源性物质对样品没有干扰。

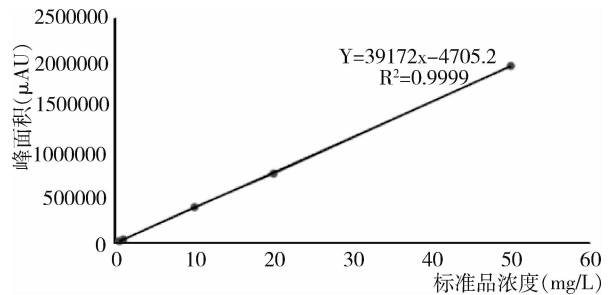


图 1 标准曲线
Fig 1 Standard curve line

3.3 精密度测定结果 盐酸林可霉素在鹅血浆中的精密度试验数据见表 2。该数据表明:鹅血浆中盐酸林可霉素低 (1.0 μg/mL)、中 (10.0 μg/mL)、高 (20.0 μg/mL) 三个浓度样品的日内分析精密度小于 5%, 日间分析精密度均小于 8%, 血浆样品的分析方法符合有关规范要求。

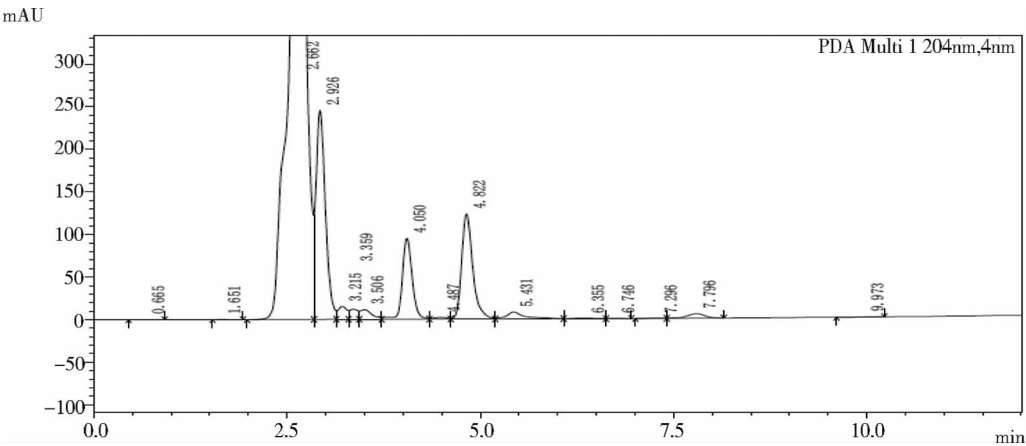


图 2 空白血浆色谱图

Fig 2 Blank plasma chromatogram

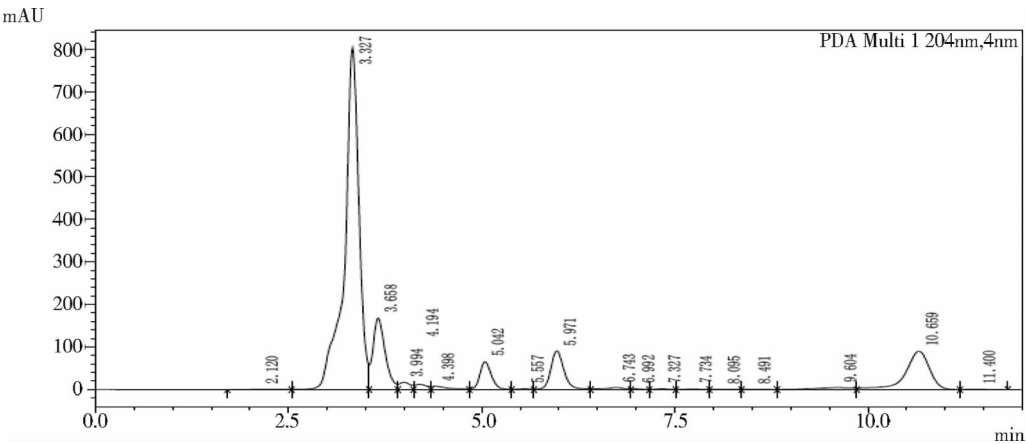


图 3 空白血浆添加标准品色谱图

Fig 4 Chromatogram of blank plasma with standard addition

表 2 林可霉素在血浆中精密度

加入浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	测定浓度 (n = 5)		RSD/ %	
	日内	日间	日内	日间
1	1.11 $\pm$ 0.05	1.09 $\pm$ 0.08	4.50	7.33
10	10.26 $\pm$ 0.23	10.16 $\pm$ 0.37	2.24	3.64
20	19.96 $\pm$ 0.64	20.1 $\pm$ 0.76	3.21	3.78

3.4 回收率测定结果 回收率结果表明:该方法中盐酸林可霉素在 1.0、10.0 和 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 三个浓度下血浆样品的平均回收率分别为 97.8%、98.4% 和 97.7%, 盐酸林可霉素的总回收率为 98.0%, 回收率均符合测定要求。

3.5 样品测定结果 林可霉素注射液组与林可霉素微球制剂组各时间点林可霉素含量测定结果显示, 试验组鹅肌肉注射 37.5 mg/kg 林可霉素微球后, 林可霉素微球在血浆中缓慢释放, 达峰时间

T_{max} 约为 1 h, 达峰浓度 C_{max} 为 2.632 mg/L, 给药后 24 h 内血液中药物浓度维持在 0.3 mg/L 以上, 缓释时间长达 72 h, 血浆中林可霉素含量在 0.145 mg/L 以上。对照组鹅肌肉注射 37.5 mg/kg 林可霉素注射液后, 达峰时间 T_{max} 约为 1 h, 达峰浓度 C_{max} 为 3.83 mg/L, 达峰浓度高, 但释药时间短, 在 24 h 后血浆中检测不到林可霉素, 见图 5。相关药代动力学参数见下表。

4 讨论与结论

4.1 鹅血浆中林可霉素微球浓度的 HLPC 法的建立 为保证禽类产品质量安全和食品安全, 为人们身体健康提供保障, 有必要灵敏准确的检测到动物体内林可霉素的含量, 林可霉素的检测方法主要有微生物法、液相色谱法和毛细管法等^[8]。黄新球等采用液相色谱法测定蜂王浆中林可霉素的残留, 该

表 3 血浆中林可霉素的回收率

Tab 3 The recovery rate of lincomycin in plasma					
序号	理论浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	实测浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率%	RSD%	平均回 收率%
1	1	0.976	97.6	1.27	97.8
2		0.992	99.2		
3		0.967	96.7		
4		9.78	97.8		
5	10	9.89	98.9	0.57	98.4
6		9.86	98.6		
7	19.2	96.0			
8	20	19.8	99.0	1.53	97.7
9		19.6	98.0		

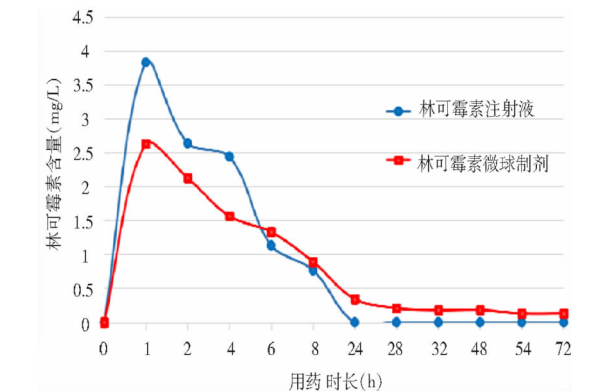


图 5 动物试验结果

Fig 5 Animal test results

表 4 药代动力学参数

Tab 4 Pharmacokinetic parameters					
组别	达峰 时间 T_{max}/h	峰值 浓度 $C_{max}/$ $h(\text{mg/L})$	药时曲线 下面积 $AUC_{0-\infty}/$ $(\text{mg/L} \cdot h)$	消除半衰期 $T_{1/2z}/h$	清除率 $CL_z/F/$ L/hkg
林可霉素 注射液	1	3.83	19.374	3.351	1.549
林可霉素 微球制剂	1	2.632	58.526	74.076	0.513

方法方便快捷,稳定性较好,成本较低,回收率高^[7]。张晓燕等采用高效液相色谱法精密度较好的检测猪肉中的盐酸林可霉素残留量^[9]。陈明等采用高效液相色谱法检测牛奶中林可霉素残留,该方法过程简单,检测速度快,分析稳定可靠^[10]。

选用液相色谱法建立了鹅血浆中林可霉素的含量检测方法,采用液相色谱法。试验中以 0.01 mol/L 硼砂-甲醇溶液(40:60)为流动相以 Waters Symmetry C18 色谱柱为分离柱,利用高效液相色谱法二极管阵列检测器测得盐酸林可霉素在 0.2~50 mg/L

范围内线性关系良好, R^2 为 0.9999,血浆平均回收率、日内日间变异系数均与王春艳^[11]、戴平^[12]等研究相符,相比之下最低检测限更低,是由不同种类检测器其灵敏度也不同造成的。同时对该方法进行了验证,考察内容包括标准曲线和准确度、紧密度、提取回收率、稳定性。证明该方法准确、可靠。

4.2 林可霉素微球的鹅血浆药代动力学研究 随着科学技术的发展,普通药物剂型已经不能满足兽医临床的应用,临床用药中对药物剂型的研究正向着缓释、控释方向发展^[13]。缓释、控释制剂能够降低血浆药物浓度波动,减少给药次数,提高药物疗效,降低不良反应,而且使用方便,因而越来越引起人们的兴趣。近几年来研制成缓、控释制剂的药物品种显著增加,首过效应、半衰期、耐药性等许多限制被打破;复方缓释、控释制剂的研制成功更为缓、控释制剂发展提供了良好的前景。本研究进行了林可霉素微球在鹅血浆中的药代动力学研究,结果表明,与林可霉素注射液相比,鹅肌肉注射 37.5 mg/kg 林可霉素微球后,林可霉素微球在血浆中缓慢释放,缓释时间达 72 h 以上,达峰浓度 C_{max} 为 2.632 mg/L,达峰时间 T_{max} 约为 1 h。李涛^[14]等发现林可霉素浓度在 0.4~1 mg/L 时对革兰氏阳性菌具有抑菌效果。利用林可霉素微球制剂给药后 24 h 内血液中药物浓度维持在 0.3 mg/L 以上,单日单剂量注射后有效抑菌时间约为 24 h。此外林可霉素注射液常规给药方案是一日二次注射法,注射林可霉素注射液后血药浓度达到峰值迅速,且峰值较高,一日两次注射操作不当易引起药物过量,产生不良反应,另外用药量浪费大,血药维持不够平稳,易导致耐药菌株出现;与其相比林可霉素微球制剂给药后,达到峰值浓度时间相同,药时曲线下面积更大,杀菌抑菌持续时间更长,杀菌抑菌更加彻底,由此可见林可霉素微球给药更加合理,还能够进一步降低细菌耐药性产生。王耀华等^[15]利用壳聚糖-海藻酸钠作为药物载体制备了康普瑞丁磷酸二钠微球制剂,并进行了大鼠中的药代动力学研究,结果表明,微球制剂在大鼠肺和肝中 AUC 显著增加了 49.34 和 20.65 倍。研究也采用壳聚糖-海藻酸钠作为药物载体制备微球制剂,

与林可霉素注射液相比 *AUC* 增加了约 3.02 倍。研究表明,自制林可霉素微球制剂缓释效果显著,生物利用度比林可霉素注射液明显增高。长效微球注射剂是由传递系统而非波动的生物因素控制吸收,所以药物缓释速率、释放持续时间、适用药物类型宽泛,因此微球剂型不仅局限于普通抗菌药物的添加,疫苗同样可以采用微球化技术包括在可生物降解的聚合物中,一次注射后,抗原在体内连续释放以保持较长时间的高抗体水平,避免多次加强免疫,这对于兽医临床免疫具有很大的实用意义^[13]。

林可霉素微球在鹅体内药代动力学研究结果进一步为缓释药物研发奠定物质基础,提供理论依据。研究为林可霉素微球的安全评价及质量评估提供了药代动力学数据支持。

参考文献:

- [1] 李 勋,韦 玮,马光辉,等. 缓释微球制剂的研究进展[J]. 北京化工大学学报(自然科学版),2017,44(6):1-11.
Li X,Wei Y,Ma G H,*et al.* Research progress of sustained-release microspheres[J]. Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science),2017,44(6):1-11.
- [2] Yapar E,Kayahan S K,Bozkurt A,*et al.* Immobilizing cholesterol oxidase in chitosan-alginate network[J]. Carbohydrate Polymers,2009,76(3):430-436.
- [3] 岳 华,马光辉. 基于纳微米颗粒和凝胶佐剂的新型疫苗传递体系[J]. 中国材料进展,2015,34(3):216-220.
Yue H, Ma G H. Novel vaccine delivery system based on nanoscale particles and gel adjuvant[J]. Progress of materials in China,2015,34(3):216-220.
- [4] 张玉婷,蔡 林,张 成,等. 海藻酸钠复合凝胶球的制备及其吸附性能研究[J]. 胶体与聚合物,2011,29(2):63-65.
Zhang Y T, Cai L, Zhang C, *et al.* Preparation and adsorption properties of sodium alginate composite gel spheres[J]. Colloids and polymers,2011,29(2):63-65.
- [5] 刘瑞华. 林可霉素合成的研究进展[J]. 微生物学通报,2018,45(5):1138-1145.
Liu, R H. Advances in the synthesis of lincomycin[J]. Bulletin of Microbiology,2018,45(5):1138-1145.
- [6] 周 倜,亓平言,苗 勇,等. 林可霉素提取过程生产现状和研究进展[J]. 国外医药抗生素分册,1999,20(3):61-63.
Zhou T, Qi P Y, Miao Y, *et al.* Current production and research progress of lincomycin extraction process[J]. Antibiotics of foreign medicine,1999,20(3):61-63.
- [7] 黄新球,胡宗文,邵金良,等. 高效液相色谱法测定蜂王浆中林可霉素残留[J]. 食品科技,2015,40(9):295-297.
Huang X Q, Hu Z W, Shao J L, *et al.* Determination of lincomycin residue in royal jelly by high performance liquid chromatography[J]. Food science and technology,2015,40(9):295-297.
- [8] 韩铸竹,杨文腰. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定饲料中林可霉素和克林霉素残留[J]. 现代畜牧兽医,2019(07):9-16.
Hang J Z, Yang W Y. Simultaneous determination of lincomycin and clindamycin residues in feed by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Modern Animal Husbandry and Veterinary,2019(07):9-16.
- [9] 张晓燕,郎嘉慧,张立秋,等. 高效液相色谱法测定猪肉中盐酸林可霉素的残留量[J]. 肉类工业,2017,000(009):36-39.
Zhang X Y, Lang J H, Zhang L Q, *et al.* Determination of lincomycin hydrochloride residue in pork by high performance liquid chromatography[J]. The meat industry,2017,000(009):36-39.
- [10] 陈 明,耿志明. 高效液相色谱法测定牛奶中林可霉素的残留量[J]. 食品科学,2008,29(012):572-574.
Chen M, Geng Z M. Determination of lincomycin residue in milk by high performance liquid chromatography[J]. Food science,2008,29(012):572-574.
- [11] 王春艳. 林可-庆大霉素复方注射液在猪血内的血药动力学特征[D]. 东北农业大学,2011.
Wang C Y. Hemodynamic characteristics of linco-gentamicin compound injection in pig blood[D]. Northeast Agricultural University,2011.
- [12] 戴 平,韦汉燕,黄凤香,等. HPLC 法测定盐酸林可霉素注射液的含量[J]. 科技信息,2010(01):769-770.
Dai P, Wei H Y, Huang F X, *et al.* Determination of lincomycin hydrochloride injection by HPLC[J]. Science and technology information,2010(01):769-770.
- [13] 朱庆贺,张 艳,王丽坤,等. 硫酸小檗碱微球制剂在绵羊体内的药代动力学研究[J]. 畜牧与兽医,2020,52(09):62-66.
Zhu Q H, Zhang Y, Wang L K, *et al.* Pharmacokinetics of Berberine Sulfate Microsphere Preparation in Sheep[J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine,2020,52(09):62-66.
- [14] 李 涛,解启英,王振隆,等. 洁霉素在马体内的代谢动力学[J]. 东北农学院学报,1984(03):87-90.
Li T, Xie Q Y, Wang Z Y, *et al.* Metabolic kinetics of lincomycin in horses[J]. Journal of Northeast Agricultural University,1984(03):87-90.
- [15] 王耀华,李力佳,刁源媛. 康普瑞丁磷酸二钠壳聚糖-海藻酸钠靶向微球的药代动力学及体内分布研究[J]. 湖南中医药大学学报,2012(12):13-14.
Wang Y H, Li L J, Diao Y Y. Study on pharmacokinetics and distribution in vivo of compridine phosphate disodium chitosan-sodium alginate targeting microspheres[J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine,2012(12):13-14.

(编辑:陈 希)