

壳聚糖载药微球的制备及应用研究进展

Preparation and application of drug-loaded chitosan microsphere

张丽¹, 宋益民¹, 张学成²

(1. 青岛科技大学 化工学院 制药工程系, 山东 青岛 266042; 2. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

中图分类号: Q819

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2009)04-0081-05

壳聚糖是一种天然聚阳离子碱性多糖,其化学名称为(1,4)-2-氨基-2-脱氧- β -D-葡聚糖,是甲壳素脱乙酰基衍生物。近年来,对其研究特别侧重于生物学及药物制剂等领域,研究证实壳聚糖具有生物黏附性和多种生物活性,它能与活体组织相容,不会引起过敏反应和排斥现象,其被体内的溶菌酶、胃蛋白酶降解后,降解产物能完全地被人体吸收,无毒、无副作用,比较适于作为缓控释辅料^[1~5]。壳聚糖包封药物后,可使其释放减慢、疗效延长,毒副作用降低,利用壳聚糖制备缓释、控释制剂已成为近年来新剂型研究的热点^[6],作者综述了壳聚糖药物缓释微球研究的应用进展。

1 壳聚糖的基本特征^[7]

壳聚糖是一类由2-氨基-2-脱氧-葡萄糖通过 β -1,4糖苷键连结而成的带正电荷的直链多糖,可通过碱水解脱去甲壳素的乙酰基而制得,基本化学结构为3-(1,4)-2-氨基-2-去氧-D-葡萄糖胺,其分子质量通常为5~20万,在酸性介质中,壳聚糖是一种线性高分子电解质,其溶液具有一定的黏度,溶液的浓度越高或分子质量越大,黏度越大。

壳聚糖因含有游离氨基,其氮原子上还有一对未结合的电子,使氨基呈弱碱性,能结合一个氢离子,从而使壳聚糖成为带正电荷的电解质。壳聚糖的氨基属于一级氨基,氨基上的氢较活泼,在中性介质中壳聚糖能与芳香醛或脂肪醛形成西佛碱(Schiff's base)。壳聚糖可用具有双官能团的醛或酸酐等交联,其交联产物不易溶解,溶胀也小,性质较稳定。

壳聚糖是天然多糖中唯一的碱性多糖,具有许多独特的生物学功能。壳聚糖具有抗菌消炎、促进伤口愈合、抗酸、抗溃疡、降血脂和降胆固醇等多种作用,同时还具有很强的凝血作用,经磺酰化后,能转变成肝素类似物而起到抗凝血作用。肿瘤细胞具

有比正常细胞表面更多的负电荷,因此,壳聚糖在酸性环境中对肿瘤细胞表面具有选择性吸附和电中和作用。此外,壳聚糖还具有直接抑制肿瘤细胞的作用,通过活化免疫系统显示抗癌活性,与现有的抗癌药物合用可增强后者的抗癌效果。

2 壳聚糖微球的制备方法

2.1 乳化分散法

将药物与壳聚糖混合后,分散在不相溶的介质中形成油包水或水包油型乳剂,然后使乳剂内相固化并分离制备微球的方法,根据内相固化方法的不同又可分为以下两种。

2.1.1 交联剂固化法^[8~10]

将药物溶解或分散于壳聚糖醋酸溶液中,混合均匀,将此溶液加入到含有表面活性剂的油相中,经搅拌或超声处理,形成O/W型乳剂,用戊二醛、甲醛、三聚磷酸盐、柠檬酸盐和硫酸盐等进行化学交联,通过离心、纯化即可制得壳聚糖微球,这是最常用的制备方法,主要适用于水溶性药物壳聚糖微球的制备。

2.1.2 溶剂蒸发法^[11,12]

将壳聚糖醋酸溶液加入到甲苯中,经超声处理,形成W/O型乳剂,加入含戊二醛的甲苯室温下搅拌,得到交联的微球,先经离心分离,然后蒸发溶剂,即可分离得到微球。1998年,Li等对此方法进行了改进,称为“油中干燥技术”,在搅拌条件下将壳聚糖醋酸溶液滴加到油相中,搅拌均匀,加热至50℃后再

收稿日期:2008-10-06;修回日期:2008-12-06

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471317)

作者简介:张丽(1985-),女,山东泰安人,硕士研究生,从事生物药物学研究,电话:13553036733,E-mail:swing_lily@hotmail.com;宋益民,通信作者,博士,教授,E-mail:songyimin1998@163.com

减压蒸馏,当溶液完全蒸发后,即可分离得到微球。该法也主要适用于水溶性药物壳聚糖微球的制备。

2.2 油相干燥法^[13]

该方法属于复合乳化法,一般是以液体石蜡或豆油做分散介质,先将药物溶入有机溶剂中,然后再分散到壳聚糖醋酸溶液中,形成 O/W 乳剂,再滴加到油相分散介质中制成 O/W/O 型复乳,此乳滴中的有机溶剂可通过常压(或减压)加热或透析方法除去,壳聚糖则将药物包覆形成微胶囊,这种方法适用于制备疏水性药物壳聚糖微球。

2.3 喷雾干燥法^[14,15]

将药物、壳聚糖分别溶于冰醋酸-水-丙酮中得到不同浓度的壳聚糖溶液,加入 1% 甲醛(或戊二醛)溶液(0.5~16 mL)为交联剂,在惰性的热气流中进行喷雾干燥,当液体通过蠕动泵输送到喷嘴后,压缩空气将液体雾化为小液滴,液滴与热空气被共同吹入一个腔体中,液滴中的冰醋酸-水-丙酮迅速蒸发,从而形成壳聚糖含药微球。该方法既适合于疏水性药物又适合水溶性药物壳聚糖微球的制备。

2.4 交联聚合法^[16]

又称盐析固化法,首先将药物分散在壳聚糖醋酸溶液中后加入吐温-80,经超声处理,使溶液浑浊而不沉淀,再加助溶剂如异丙醇使其仅呈现乳化而不浑浊,将交联剂 Na_2SO_4 溶液加入搅拌着的壳聚糖乳液中,使微球固化并包裹药物于其中,该方法主要通过调节溶液的浊度来控制微球的形成。这种方法一般用于制备疏水性药物壳聚糖微球。

2.5 凝聚法^[17]

壳聚糖微球也能用凝聚法制备,常用海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、 κ -角叉菜胶和聚丙烯酸钠等高分子材料,在一定条件下,相反电荷的高分子材料互相交联形成壳聚糖复合物后,可使溶解度降低,便于微球自溶液中凝聚析出。该法避免了在其他制备壳聚糖微球方法中使用的有毒的有机溶剂和戊二醛,形成的壳聚糖微球具有较高的包封率和明显的控释作用。

2.6 壳聚糖包裹法^[18~20]

已制成的高分子材料药物微球加入到不同浓度的壳聚糖醋酸溶液中,其表面可包覆一定量的壳聚糖。这种方法适合于疏水性和亲水性药物壳聚糖微球的制备。

2.7 壳聚糖微球乙酰化法^[21,22]

采用不含表面活性剂的硅油作为分散介质,通过“Dry-in-oil”法所制得含有 5-FU、替加氟和去氧氟尿苷的壳聚糖微球,具有相当大的粒径(300~

900 μm)和载药量(质量分数为 4%~22%),将含有 DFUR 的壳聚糖微球(DFUR-M)与醋酐进行乙酰化,并用壳聚糖和戊二醛进行包衣。DFUR-M 表现出起始快速释放,重复乙酰化或壳聚糖包衣后可延长包封药物的释放,一定程度上抑制突释。

3 壳聚糖微球的应用

3.1 缓控释给药

壳聚糖是一种弱碱,在中性和碱性条件下不溶。在酸性介质中,其氨基在溶液中被质子化,成为带正电的多聚糖,故通常使用 1%~3% 的醋酸缓冲液作为壳聚糖溶液的溶剂。壳聚糖分子内具有活性基团氨基,可与含双官能团的醛类或酸酐类药物发生化学交联,使药物大量分布于交联结构内,缓慢释放,包封在壳聚糖微球内的药物具有明显的缓释、控释或延时释药的特征。

1994 年,Ohya 等^[23]首次进行了载药壳聚糖纳米微球的研究。采用水/油(W/O)型乳化剂进行乳化,以戊二醛为交联剂对壳聚糖的游离氨基进行交联,制备得到了 5-氟尿嘧啶(5-FU)壳聚糖纳米微球(平均粒径:0.8 μm ±0.1 μm)。体外释放实验表明,壳聚糖微球具有显著的缓释作用,说明该种微球是药物很好的载体。1998 年,Jameela 等^[24]对黄体酮壳聚糖微球的体内释放进行了研究,该微球经肌肉注射到兔体内后,其血药浓度在 5 个月内维持在 1~2 $\mu\text{g/L}$ 水平。Bugamelli 等^[25]1998 年用抗坏血酸棕榈酸酯作为交联剂,制备的胰岛素微球能近似恒速地释放胰岛素达 80 h。2003 年,al-Suwayeh 等^[26]制备了盐酸地尔硫卓的酪蛋白-壳聚糖微球后,加入黏合剂和硬脂酸镁直接压片,给 beagle 犬使用该制剂后发现其与市售制剂盐酸地尔硫卓缓释片(Dilzem retard)相比,消除半衰期无显著性差异,达到了良好的控释效果。

3.2 靶向给药

1999 年,Sugibayashi 等^[27]研究认为静脉注射粒径小于 1.4 μm 的微球可全部通过肺循环,90.10% 可被肝、脾的网状内皮细胞所吞噬;粒径在 7~14 μm 范围内的微球主要停留在肺部;3 μm 以下的微球大部分停留在肝脾部;连接有配基、抗体、酶的微球则可主动地分别到达受体、抗原,酶底物等所在的靶部位,显示了其体内分布的靶向性。壳聚糖本身具有一定的黏膜黏附性,通过控制壳聚糖微球的大小、形状,选择适当的给药方法,能够提高壳聚糖微球的靶向效果。

1998 年,Hassa 等^[28]对 oxantrazole 磁性微球增

强脑部的运载能力进行了研究,结果,小鼠动脉内注射 oxantrazole 磁性微球,在 6 000 G 磁场作用下,30 min 后,脑部 oxantrazole 浓度是单纯注射 oxantrazole 的 100 倍。在 oxantrazole 微球治疗组中,小鼠同一侧的 oxantrazole 浓度比另一侧要高得多,说明 oxantrazole 微球具有器官选择性。由于血脑屏障的作用,导入脑部的微球在没有磁场时仍停留在脑部。刘丽萍等^[29]2003 年采用超声混匀-乳化-化学交联技术,以正交实验筛选出制备利福平壳聚糖微球最佳的工艺条件,按此工艺条件制得的含有磁流体的微球,在光镜下观察呈褐色且分散性良好,粒径分布在 $12.36 \mu\text{m} \pm 4.68 \mu\text{m}$ 的范围内。研究表明,在外部磁场引导和微球粒径大小双重控制下,该粒径范围的微球被定位于肺部靶区,说明利福平壳聚糖微球可能会成为临床结核病治疗的一种新的靶向制剂。1993 年,Ohya 等^[30]制备了表面覆盖有阴离子多糖如 6-O-羧甲基-N-乙酰-1,4-聚半乳糖胺(NAPGA)、海藻酸钠、肝素等的氟尿嘧啶壳聚糖微球,壳聚糖微球表面连接的多糖可被细胞表面特殊的受体识别,研究结果显示 NAPGA 微球对 SK-Hep-1 肝癌细胞有特殊的亲和力和抑制癌细胞生长的作用。2007 年,李扬等^[31]利用乳化分散法制备了左氧氟沙星羧甲基壳聚糖微球,体内外试验结果表明所载药物可如预想设计到达结肠定位释放。壳聚糖微球可靶向分布于肿瘤组织,加强药物的通透性和滞留性,提高药物的稳定性及生物利用度,降低全身血药浓度,减少副作用的发生。2007 年,慕容^[32]合成了磁性壳聚糖微球并将其应用于 Walker-256 大鼠移植性肝癌模型治疗研究。结果表明,载药磁性壳聚糖加磁场治疗组较生理盐水和阿霉素治疗组生存期明显延长($P < 0.05$),并可以部分抑制阿霉素对骨髓干细胞的损伤作用,表明靶向治疗明显减轻了阿霉素的骨髓抑制毒性,显著延长了荷瘤大鼠的寿命。

3.3 生物大分子给药

随着生物技术的发展,疫苗、蛋白质类药物不断涌现,这类药物具有活性高、疗效稳定、毒副作用小、用量少等突出优点,但是疫苗、蛋白质类药物还具有分子质量大,在体内外的稳定性差,容易受体内酶、微生物、体液所降解,生物膜通透性差,半衰期短等缺点,使得疫苗、蛋白质类药物的临床应用大受限制。而将疫苗、蛋白质类药物制成微球系统给药,不仅能够有效防止药物在体内的很快降解,还能将药物缓慢释放并靶向送达体内的作用部位,从而达到长效缓释靶向目的。

2000 年,Kawashima 等^[33]采用溶剂蒸发法制备了壳聚糖包衣的降钙素 PLGA 微球,大鼠口服后血浆钙浓度显著减低,作用维持时间达 48 h。2002 年,Ozbas-Turan 等^[34]采用沉淀/凝聚法制备了白介素-II 壳聚糖微球,利用 HeLa 细胞及 L-strain 细胞进行体外实验,研究结果表明被包封后的白介素-II 很好地保持了生物活性,连续释药维持时间达 3 个月。

3.4 黏膜黏附给药

壳聚糖具有较好的黏膜黏附性,在酸性环境下黏附力最强,且具有一定的促渗作用。壳聚糖的黏附机制主要是与黏液中的糖蛋白产生非共价键,如氢键、范德华力、离子间的相互作用等。近年来有关壳聚糖微球黏膜黏附给药系统的研究内容不断增加。

2007 年,宋益民等^[35]采用乳化分散法制备卡托普利/壳聚糖明胶网络多聚物微球,湿法制粒制备 Cap 生物黏附型缓释胶囊研究表明,Cap 生物黏附型缓释胶囊具有良好的胃肠道黏附特性、对胃肠道黏膜的黏附力与处方中羟丙基甲基纤维素(HPMC)用量呈正相关,而与碳酸钙和碳酸镁的用量呈负相关。体外释药试验证明,Cap 生物黏附型缓释胶囊与 Cap 普通片相比具有明显延缓 Cap 释放作用,药物释放速率与 HPMC 用量呈负相关,释放动力学模拟结果表明其体外释药行为以希古切(Higuchi)为最佳拟合模型,结果说明,Cap 生物黏附型缓释胶囊药物释放行为是扩散和骨架溶蚀协同作用的结果,为改善卡托普利治疗效果、降低其不良反应并为开发理想的水溶性药物缓释系统提供实验依据和理论基础。

3.5 降低药物的毒副作用,提高疗效

载有药物的壳聚糖微球循血液循环到达靶区周围释放药物,使靶区周围很快达到有效的治疗药物浓度,而在机体其他部位药物的分布量较小,从而减少了对机体正常组织的毒副作用。同时由于载体壳聚糖自身具有一定的生理活性,与药物可产生协同作用增强疗效。有文献报道^[36]小鼠腹膜内注射米托蒽醌壳聚糖微球对 Ehrlich 腹水癌的抗癌活性远远高于阿霉素白蛋白微球,腹膜内注射 2 mg 游离的米托蒽醌,小鼠的平均存活时间为 2.1 d,而相同剂量的壳聚糖药物微球使小鼠的平均存活时间达到了 50 d,且 62.5% 的小鼠存活时间超过 60 d。

1993 年,Nishioka 等^[37]研究了含壳聚糖、甲壳素的顺铂白蛋白微球注入接种有 VX₂ 肿瘤的兔肝动脉造成栓塞后微球的抗肿瘤活性及肿瘤靶向性,结果表明,加入甲壳素和壳聚糖的顺铂-白蛋白微球的抗肿瘤活性明显增强,其肿瘤生长率分别 160% 和

120%，明显低于未加壳聚糖组的 580%。1995 年，王亚敏等^[38]在国内首次制备了顺铂壳聚糖的肝动脉栓塞微球，平均粒径 $74 \mu\text{m} \pm 0.94 \mu\text{m}$ ，顺铂含量为 $20.83\% \pm 1.72\%$ ，并且报道了顺铂壳聚糖微球犬肝动脉栓塞的实验研究和治疗肝癌的临床应用结果。顺铂壳聚糖微球能引起栓塞动脉分支减少，动物肝和病人肝癌组织坏死和出血，可以栓塞直径为 $100 \sim 500 \mu\text{m}$ 的微动脉，病人对此微球的耐受性好。2005 年，徐海涛等^[39]观察了壳聚糖-顺铂缓释微球对 C6 胶质瘤大鼠瘤内化疗的疗效，将单纯顺铂置于肿瘤内，其载瘤大鼠的生存期明显长于对照组 ($P < 0.05$)，同时有 4 只 (4/15) 给药后立即死亡，表明顺铂虽然能抑制肿瘤生长，但对中枢神经系统也造成急性毒性损害，而肿瘤内置入壳聚糖-顺铂缓释微球的载瘤大鼠避免了前者急性毒性反应，其生存期明显长于对照组和单纯顺铂给药组 ($P < 0.05$)，说明壳聚糖-顺铂微球毒性小、安全性较高，疗效可靠。

3.6 提高疏水性药物对细胞膜的通透性

壳聚糖微球溶胀引起的扩散释药过程可以增加药物在吸收部位的浓度梯度，对药物的吸收具有协同促进作用。同时壳聚糖分子可以改变膜转运机制，打开细胞通道，有利于提高药物在细胞间瞬间渗透的能力，促进药物在细胞内发挥药效。

壳聚糖微球可以改变膜转运机制、增加药物对生物膜的通透性，有利于药物在细胞内发挥药效。Mooren 等^[40]1998 年研究了泼尼松龙磷酸钠壳聚糖微球通过上皮细胞膜的情况，结果表明，壳聚糖微球可以改善上皮细胞膜对疏水性药物通透性。2001 年 Mitra 等^[41]将 Doxorubicin (DXR) 封装于壳聚糖纳米微球中，不仅肿瘤实体内药物浓度提高，作用维持时间延长，治疗效果改善，不良反应也明显减轻。

3.7 提高药物的稳定性

抗生素口服给药时存在作用部位浓度低、滞留时间短，在酸性胃液中不稳定等问题。壳聚糖微球作为抗生素药物的载体，能提高药物稳定性，保持药物活性。目前已经有阿莫西林、氨苄西林、四环素、磺胺嘧啶、灰黄霉素、磺胺噻唑等抗生素被制备为壳聚糖微球给药系统。

随着生物技术的发展、基因重组肽和蛋白质药物不断涌现，且越来越多的应用于临床。与化学合成药物相比，肽类药物具有毒副作用轻，吸收快的特点，但由于此类药物在胃肠道内极易被酶降解，因而临床上一般采用注射方式给药；因其普通注射剂半减期较短，为维持体内有效治疗浓度，需要长期频繁注射给药，如采用皮下或肌肉注射，生物利用度也不

高；此外，多数肽类药物不易透过生物膜屏障，从而使疗效受到影响。将这类药物经壳聚糖包覆后可明显提高药物的稳定性。

1995 年，Alexakis^[42]等制备了小牛胸腺 DNA 海藻酸酯微球，外面包覆壳聚糖经壳聚糖处理后的载药微球经过胃肠道时药物不被破坏，60% 的 DNA 可以从粪便等排泄物中得到。Liu 等^[43]1997 年以壳聚糖和海藻酸钠为载体材料制备了白介素-II 多孔微球，由微球中释放的白介素-II 诱导 T 淋巴细胞增殖活性明显强于裸白介素-II。

4 展望

壳聚糖作为一种天然的高分子物质，无毒，良好的生物相容性和生物可降解性，来源丰富，而具有广阔的应用前景，倍受世界各国药学研究人员的瞩目。在药物新释药系统研究方面，壳聚糖微球作为一种新型的药物载体，具有可改变体内药物的分布，延迟药物的释放，提高药物生物利用度，改善生物膜对药物的通透性，增加药物体内局部滞留时间等作用，它可包覆多种药物，用于器官靶向，胞内靶向等药物传递系统或口服，眼用和透皮释药系统中。目前，随着生物技术的迅猛发展，疫苗和蛋白质类药物释药系统的研究开发，日益得到广泛的关注，对于壳聚糖微球在蛋白质类、疫苗类药物的释药系统研究中的应用是此领域的新兴热点，目前，已经有不少探索和成果，它的发展前景将会是非常令人兴奋和有市场潜力的。

参考文献：

- [1] Felt O, Buri P, Gurny R. Chitosan : a unique polysaccharide for drug delivery [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 1998, **24**(11): 979-973.
- [2] Richardson S C, Kolbe H V, Duncan R. Potential of low molecular mass chitosan as a DNA delivery system; biocompatibility, body distribution and ability to complex and protect DNA [J]. *Int J Pharm*, 1999, **178**(2): 231-243.
- [3] Schipper N G, Varum K M, Artusson P, *et al.* Chitosan as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 1: Influence of molecular weight and degree of acetylation on drug transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cells [J]. *Pharm Res*, 1996, **13**(11): 1 686-1 692.
- [4] Luessen H L, de leeuw B J, Langemeyer M, *et al.* Mucoadhesive polymers in peroral peptide drug delivery. VI. carbomer and chitosan improve the absorption of the peptide drug busserelin in vivo [J]. *Pharm Res*,

- 1996, **13**(11): 1 668-1 172.
- [5] Kotze A F, Luessen H L, de Leeuw B J, *et al.* Comparison of the effect of different chitosan salts and N-trimethyl chitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells [J]. **J Control Release**, 1998, **51**(1): 35-46.
- [6] 刘伟, 查晶, 胡一桥. 壳聚糖作为缓控释辅料研究的最新进展 [J]. 中国药科大学学报, 2000, **31**(30): 234-238.
- [7] Illum L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient [J]. **Pharm Res**, 1998, **15**(9): 1 326-1 331.
- [8] Thanoo B C, Sunny M C, Jayakrishnan A. Cross-linked chitosan microspheres: preparation and evaluation as a matrix for the controlled release of pharmaceuticals [J]. **J Pharm Pharmacol**, 1992, **44**(4): 283-286.
- [9] 何强芳, 李国明, 巫海珍, 等. 5-氟尿嘧啶壳聚糖微球的制备及其释药性能 [J]. 应用化学, 2004, **21**(2): 192-196.
- [10] Zhou L, Xu J M, Song Y M, *et al.* Preparation and in vitro release performance of Sustained-release Captopril/chitosan-getain Net-polmer microspheres (Cap/CGNPMs) [J]. **J Ocean Univ China**, 2007, **6**(3): 249-254.
- [11] Genta I, Perugini P, Conti B, *et al.* A multiple emulsion method to entrap a lipophilic compound into chitosan microspheres [J]. **Int J pharm**, 1997, **152**(2): 237-246.
- [12] Jones D S, Pearce K J. An investigation of the effects of some process variables on the microencapsulation of propranolol hydrochloride by the solvent evaporation method [J]. **Int J Pharm**, 1995, **118**(2): 199-205.
- [13] Pavanetto F, Perugini P, Conti B, *et al.* Evaluation of process parameters involved in chitosan microsphere preparation by the o/w/o multiple emulsion method [J]. **J Microencapsul**, 1996, **13**(6): 679-688.
- [14] Pavanetto F, Genta I, Giunchedi P, *et al.* Spray-dried albumin microspheres for the intra-articular delivery of dexamethasone [J]. **J Microencapsul**, 1994, **11**(4): 445-454.
- [15] He P, Davis S S, Illum L. Chitosan microspheres prepared by spray drying [J]. **Int J Pharm**, 1999, **187**(1): 53-65.
- [16] Shu X Z, Zhu K J. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure [J]. **Int J Pharm**, 2002, **233**: 217-225.
- [17] Carmen R L, Roland B. Effect of formulation and process variables on the formation of chitosan-gelatin coacervate [J]. **Int J Pharm**, 1996, **135**: 63-72.
- [18] Vural I, Kas H S, Hincal A A, *et al.* Cyclophosphamide load albumin microspheres II. Release characteristics [J]. **J Microencapsul**, 1990, **7**(4): 511-516.
- [19] Lin W J, Kang W W. Comparison of chitosan and gelatin coated microparticles: prepared by hot-melt method [J]. **J Microencapsul**, 2003, **20**(2): 169-177.
- [20] Takishima J, Onishi H, Machida Y. Prolonged intestinal absorption of cephadrine with chitosan-coated ethylcellulose microparticles in rats [J]. **Biol Pharm Bull**, 2002, **25**(11): 1 498-1 502.
- [21] Yoshino T, Machida Y, Onishi H, *et al.* Preparation and characterization of chitosan microspheres containing doxifluridine [J]. **Drug DevInd Pharm**, 2003, **29**(4): 417-427.
- [22] Portero A, RemunanLopez C, Criado M T, *et al.* Reacetylated chitosan microspheres for controlled delivery of anti-microbial agents to the gastric mucosa [J]. **J Microencapsul**, 2002, **19**(6): 797-809.
- [23] Ohya Y, Shiratani M, Kobayashi H, *et al.* Preparation of chitosan nanoparticle for drug carrier [J]. **Pure Appl Chem**, 1994, **A31**: 629- 642.
- [24] Jameela S R, Kumary T V, Lal A V, *et al.* Progesterone-loaded chitosan microspheres: a long acting biodegradable controlled delivery system [J]. **J Controlled Release**, 1998, **52**(12): 17-24.
- [25] Bugamelli F, Raggi M A, Orienti I, *et al.* Controlled insulin release from chitosan microparticles [J]. **Arch Pharm**, 1998, **331**(4): 133-138.
- [26] al-Suwayeh S A, el-Helw A R, al-Mesned A F, *et al.* In vitro-in vivo evaluation of tableted caseinchitosan microspheres containing diltiazem hydrochloride [J]. **Boll Chim Farm**, 2003, **142**(1): 14-20.
- [27] Sugibayashi K, Morimoto Y, Nadai T, *et al.* Drug-carrier property of albumin microspheres in chemotherapy. II. Preparation and tissue distribution in mice of microsphere-entrapped 5-fluorouracil [J]. **Chem Pharm Bull**, 1979, **27**(1): 204-209.
- [28] Hassan E E, Gallo J M. Targeting anticancer drugs to the brain. I: Enhanced brain delivery of oxantazole following administration in magnetic cationic microspheres [J]. **J Drug Target**, 1993, **1**(1): 7-14.
- [29] 刘利萍, 李苹, 吴泽志, 等. 肺靶向利福平壳聚糖微球的构建 [J]. 化学世界, 2003, **4**: 200-202.
- [30] Ohya Y, Takei T, Kobayashi H, *et al.* Release behavior of 5-fluorouracil from chitosan-gel microspheres immobilizing 5-fluorouracil derivative coated with polysaccharides and their cell specific recognition [J]. **J Microencapsul**, 1993, **10**(1): 1-9.
- [31] 李扬, 王强, 陈涵, 等. 左氧氟沙星羧甲基壳聚糖微球结肠靶向释药的实验研究 [J]. 中国新药杂志, 2007, **16**(24): 2 062-2 065.

(下转第 89 页)