

药用辅料丙三醇气管内雾化给药局部刺激性和细胞毒性研究

冯红敏^{1,2}, 盛云华², 胡玥^{1,2}, 王宇², 孙杰², 唐黎明^{2*} (1. 复旦大学药学院, 上海 201203; 2. 上海市食品药品检验所药理毒理室, 上海 201203)

摘要:目的 从体内和体外分别考察丙三醇的局部刺激性和细胞毒性,初步评价丙三醇作为吸入制剂辅料应用的安全性。**方法** 局部刺激性试验:取 Wistar 大鼠,分为 2 组。丙三醇组采用气管内雾化给予 20% 丙三醇,阴性对照组给予同体积 0.9% 氯化钠注射液,连续给药 5 d。给药结束后取咽喉部、气管、肺进行组织病理学检查,进行支气管肺泡灌洗并检测灌洗液中总蛋白(TP)含量和碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)活性。细胞毒性试验:采用 MTT 法研究丙三醇对人肺腺癌细胞 A549、人支气管上皮细胞 16HBE、大鼠气管上皮细胞 RTE 这 3 种细胞株的毒性作用,分别计算 IC₅₀ 值。**结果** 局部刺激性试验:组织病理学检查结果显示,阴性对照组出现轻度肺泡内炎症细胞浸润(1/8),丙三醇组出现极轻度到轻度的肺泡内炎症细胞浸润(6/8)和血管周围炎(2/8);支气管肺泡灌洗液检查结果显示,与阴性对照组相比,丙三醇组 ALP 水平显著升高($P < 0.05$)。细胞毒性试验:在体积分数 0.25% ~ 10% 内,丙三醇对 A549、16HBE 及 RTE 的细胞毒性作用存在量效关系,相关系数 r^2 值分别为 0.989、0.981 和 0.964,IC₅₀ 分别为 4.28%、4.40% 和 4.31%。**结论** 气管内雾化给予体积分数 20% 丙三醇对大鼠肺部具有轻微刺激性;体积分数达到 2.0% 时,丙三醇对 A549 和 16HBE 细胞有显著的毒性作用,体积分数达到 4.0% 时对 RTE 细胞有显著的毒性作用。体内外试验结果均提示大剂量丙三醇可能会对肺部产生轻刺激性及毒性作用。

关键词: 辅料;丙三醇;气管内雾化;局部刺激性;细胞毒性

doi:10.11669/cpj.2019.01.009 **中图分类号:**R944 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-2494(2019)01-0042-05

Local Irritation and Cytotoxicity Study of Glycerol as Pharmaceutical Excipient

FENG Hong-min^{1,2}, SHENG Yun-hua², HU Yue^{1,2}, WANG Yu², SUN Jie², TANG Li-ming^{2*} (1. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the local irritative response and cytotoxicity of glycerol *in vivo* and *in vitro*, and evaluate the safety of glycerol as an excipient in inhaled preparations preliminarily. **METHODS** Local irritation test; rats were divided into two groups, the glycerol group received 20% glycerol by intratracheal atomization once a day, followed by 5 d, the control group was given the equal volume of 0.9% sodium chloride solutions in the same way. After administration, the throat, trachea and lung were taken for histopathological examination, and bronchoalveolar lavage was performed in each group, total protein (TP) content (BCA method) and alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) activity in the lavage fluid were detected (biochemical instrument). Cytotoxicity test; the toxic effects of glycerol on adenocarcinoma human alveolar epithelial-like cells (A549), human bronchial epithelial cells (16HBE) and rat tracheal epithelial cells (RTE) were studied by MTT assay. **RESULTS** Local irritation test: the control group showed mild infiltration of inflammatory cells in the alveolar (1/8), glycerol group showed perivascular inflammation (2/8) and moderate mild to mild infiltration of inflammatory cells in the alveolar (6/8); bronchoalveolar lavage fluid test showed that, compared with the control group, the level of ALP in the glycerol group was elevated significantly ($P < 0.05$). There was a dose-effect relationship between the cytotoxicity on A549, 16HBE and RTE cells with varying volume fraction of glycerol content in the range of 0.25% - 10%, r^2 values were 0.989, 0.981, 0.964, and IC₅₀ were 4.28%, 4.40%, 4.31% respectively. **CONCLUSION** The 20% glycerol has slight irritation to the lung *in vivo*, and *in vitro* glycerol has obvious toxic effect on A549 and 16HBE cells when the volume fraction reached 2.0%, when it reached 4.0%, it has significant toxic effect on RTE cells, suggesting that large dose of glycerol may cause mild irritation and toxicity to the lungs.

KEY WORDS: excipient; glycerol; intratracheal atomization; local irritation; cytotoxicity

丙三醇(glycerol, Gly)别名甘油,是无色透明黏稠液体,具有较强的吸湿性,广泛用于制药、食品、化妆品和烟草等行业。在制药领域,Gly 可用作药物制剂的溶剂、吸湿剂、防冻剂和调味剂、增塑剂、防腐

作者简介:冯红敏,女,硕士研究生 研究方向:药物分析 * 通讯作者:唐黎明,男,教授,硕士生导师 研究方向:药物毒理学
Tel: (021)50798172 E-mail: tangliming@sifdc.org.cn

剂等^[1-2];在烟草行业中,Gly 用来改善烟草的保湿性,其在卷烟中的含量约为1%~5%,同时 Gly 还可用作香精的表面活性剂等^[3-4]。

近年来,由于肺部给药所具有的独特优势,越来越多药物通过吸入途径给药来治疗呼吸系统疾病。而 Gly 作为吸入制剂的辅料,可在喷雾剂溶液体系中用作助溶剂,亦可用作保证干粉制剂长期稳定性和流动性的赋形剂^[5]。但由于肺的缓冲能力有限,吸入制剂在达到治疗效果的同时,通过吸入进肺的辅料可能导致肺部损伤。尽管 Gly 的诸多非临床安全性研究结果表明,其口服制剂和外用制剂的安全性较好,经口和经皮给药的急性毒性较低,局部刺激性较小,致敏性小等^[6]。但作为吸入制剂中的辅料,Gly 长期吸入的安全性尚缺乏足够的毒理学数据,并且国内外暂无明确规定 Gly 在吸入制剂中的应用限值。本实验采用体内体外 2 种方式,体内试验用气管内雾化给药的方式,考察 Gly 对大鼠呼吸道的局部刺激性;体外试验通过 MTT 法考察 Gly 对于人肺腺癌细胞 A549、人支气管上皮细胞 16HBE、大鼠气管上皮细胞 RTE 的毒性作用。从体内和体外两方面为药用辅料 Gly 在吸入制剂中的应用提供安全性的依据。

1 材料

1.1 动物和细胞株

Wistar 大鼠(上海斯莱克实验动物有限责任公司,8 周龄,雌雄各半,共 16 只)。饲养条件:房间温度 22~24 °C,湿度 31%~62%,光照周期 12 h,大鼠正常饮食。

人肺腺癌细胞 A549 由复旦大学药学院赠予;人支气管上皮细胞 16HBE 及大鼠气管上皮细胞 RTE 购自北京北纳创联生物(BNCC),3 株细胞均置于 37 °C 恒温、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.2 主要仪器

小动物麻醉机(VIP 3000);雾化给药装置 Microsprayer (Model IA-1B; Penn Century 公司);喉镜;平头镊;气管内雾化给药操作台;Hettich ROTANTA 460R 高速冷冻离心机(Hettich 公司);KB240 BINDER 低温培养箱(Binder GmbH 公司);Millipore advantage A10 纯水仪(Millipore 公司);生化仪、病理相关仪器。

BCM-1300A 层流超净台(AIRTECH 公司);CO₂ 培养箱(Thermo Electron 公司);5810R 离心机(Eppendorf 公司);Vi-cell XR 细胞活力分析仪

(BECKMAN COULTER 公司);SpectraMax 384 酶标仪(Molecular Device 公司);TS100-F 倒置相差数码显微镜(NIKON 公司)。

1.3 主要药物与试剂

丙三醇(陶氏公司);0.9% 氯化钠注射液[华裕(无锡)制药有限公司];蛋白含量分析试剂盒(BCA 法)(南京建成生物工程研究所)。20% Gly 由 0.9% 氯化钠注射液配制,4 °C 密封保存,备用。

培养基(DMEM, MEM)、胎牛血清(FBS)、磷酸盐缓冲液(PBS)、胰酶(Gibco 公司);四甲基噻唑蓝(MTT)粉末、DMSO(Sigma 公司)。Gly 溶液的配制:用无血清 DMEM 培养基(A549 和 16HBE 细胞试验)和 5% MEM 培养基(RTE 细胞试验)分别配制 0.5%、1%、2%、4%、8%、12%、20% Gly 溶液。MTT 溶液的配制:取 MTT 粉末,使用当日用 PBS 配制成浓度为 5 mg·mL⁻¹ 溶液,使用 0.22 μm 微孔滤器(Millipore 公司)进行过滤,并在加入细胞前维持 37 °C。

2 方法

2.1 局部刺激性试验

2.1.1 动物分组及给药 Wistar 大鼠,180~200 g,雌雄各半,共 16 只,分为阴性对照组、Gly 给药组。

Gly 给药组采用气管内雾化给予 20% Gly,每次 200 μL,阴性对照组给予同体积 0.9% 氯化钠注射液,每日给药 1 次,连续给药 5 d。

2.1.2 组织病理学检查及支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)检查 于第 5 天给药结束后 24 h,麻醉动物并进行解剖。取咽喉部、气管、肺进行组织病理学检查。肺在 10% 中性福尔马林溶液固定之前进行支气管肺泡灌洗操作,灌洗液做总蛋白含量(TP)检测(BCA 法)和碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)活性分析(生化仪)。

2.2 细胞毒性试验

2.2.1 细胞培养 A549 和 16HBE 细胞培养在含 10% FBS 的 DMEM 培养基中,RTE 细胞培养在含 20% FBS 的 MEM 培养基中,于 37 °C 恒温、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。待细胞生长至 70%~80% 时,可以用 0.25% 胰酶-EDTA 溶液消化传代,细胞试验前已传 3~5 代。

2.2.2 MTT 法 取对数生长期的细胞进行试验,接种当日,分别用含 10% FBS 的 DMEM 培养液(A549、16HBE)和 20% FBS 的 MEM 培养液(RTE)制备细胞悬液。将密度约 5.0 × 10⁴ 个·mL⁻¹ 的细

胞悬液,加入 96 孔培养板内,每孔加 100 μL ,置于培养箱内培养(24 ± 1) h。待细胞贴壁生长后,加入不同体积分数的 Gly,每孔 100 μL ,使 Gly 的最终体积分数为 0.25%、0.5%、1%、2%、4%、6%、10%。另设空白组(空白孔加入 100 μL PBS,无细胞),阴性对照组(加入等体积的不同细胞培养基),每组设 5 个复孔。给药后细胞于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温、5% CO_2 的细胞培养箱中培养。

细胞培养(48 ± 1) h 后,倒置 96 孔板除去培养基,吸水纸上吸干。每孔加入 100 μL 质量浓度为 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 MTT 溶液,继续培养 4 h 后弃去孔内液体,再加入 150 μL DMSO,置振荡器上振荡 10 min。在酶标仪 490 nm (RTE, A549) 和 570 nm (16HBE) 波长下测定吸光度 OD 值(参比波长为 630 nm),按以下公式计算各组细胞抑制率。细胞抑制率(%) = (阴性对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / (阴性对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) $\times 100\%$ 。

2.3 统计学分析

应用 GraphPad Prism 6.02 软件进行数据分析,获得 IC_{50} 及 r^2 值;组间比较采用 SPSS19.0 软件的 Kruskal-Wallis 检验分析,以 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果

3.1 局部刺激性试验

3.1.1 组织病理学检查 组织病理学检查结果显示,阴性对照组出现轻度的肺泡内炎症细胞浸润(1/8),Gly 组出现极轻度的血管周围炎(2/8)和极轻度到轻度的肺泡内炎症细胞浸润(6/8),结果见表 1,图 1。

3.1.2 支气管肺泡灌洗液检查 BALF 检查结果显示,与阴性对照组相比,Gly 组 TP、LDH 无明显变化,而 ALP 水平显著升高($P < 0.05$),见表 2。

表 1 Gly 组大鼠局部刺激性试验组织病理学检查结果

Tab. 1 Histopathology incidence findings of intratracheal atomization of 20% Gly in rats

Tissue histopathology finding	Group	
	Control	Gly
<i>n</i>	8	8
Lung inflammatory infiltrate		
Mild	1	3
Moderate	0	3
Perivascular inflammation		
Mild	0	2
Moderate	0	0

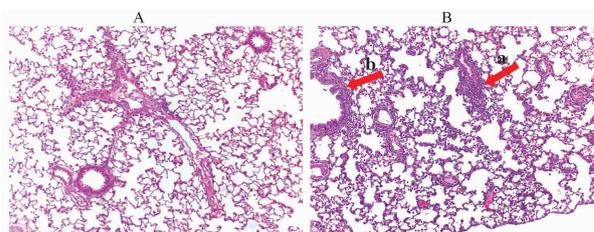


图 1 20% Gly 对大鼠肺部细胞病理学影响($\times 100$)

A - 阴性对照组;肺脏多数未见明显异常;B - Gly 组;a - 肺脏见少量炎症细胞;b - 血管周围炎

Fig. 1 Effect of 20% Gly on alveoli and bronchus in rats ($\times 100$)

A - control group, no obvious abnormality in lung; B - Gly group; a - aggregation of inflammatory cells in alveoli; b - bronchus, perivascular inflammation

表 2 气管内雾化 20% Gly 对 Wistar 大鼠支气管肺泡灌洗液中 TP、ALP、LDH 含量的影响。 $n = 8, \bar{x} \pm s$

Tab. 2 Quantification of TP, ALP and LDH in BALF of intratracheal atomization of 20% Gly in rats. $n = 8, \bar{x} \pm s$

Group	TP/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	ALP/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	LDH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
Control	0.5 \pm 0.6	44 \pm 23	197.7 \pm 115.1
20% Gly	0.4 \pm 0.1	78 \pm 16 ¹⁾	212.7 \pm 74.3

注:与阴性对照组相比,¹⁾ $P < 0.05$

Note:¹⁾ $P < 0.05$, vs control group

3.2 细胞毒性试验

Gly 对人肺腺癌细胞 A549、人支气管上皮细胞 16HBE、大鼠气管上皮细胞 RTE 的 IC_{50} 分别为 4.28%、4.40% 和 4.31%,相关系数 r^2 值分别为 0.989、0.981 和 0.964,且在 0.25% ~ 10% 的体积分数内存在量效关系。由 GraphPad Prism 6.02 软件拟合后的细胞增殖抑制率曲线及上述 IC_{50} 、 r^2 值,结果见图 2。

与阴性对照组比较,体积分数不大于 1.0% 时,Gly 对 A549 和 16HBE 细胞无明显的细胞毒作用,在体积分数大于 2.0% 时,有显著的细胞毒作用;对于 RTE 细胞而言,Gly 在体积分数不大于 2.0% 时无明显的细胞毒作用,大于 4.0% 时呈现显著的细胞毒作用,结果见表 3。

4 讨论

在吸入制剂的体内安全性评价研究中,气管内给药和气溶胶雾化吸入是目前最主要的两种给药方式。气管内给药主要包括气管插管、气管内喷入或滴注方式;气溶胶雾化吸入主要分为分为口鼻式吸入与整体暴露方式。其中气管内喷入或滴注采用特殊的肺部给药针,预先将受试药液或干粉装入

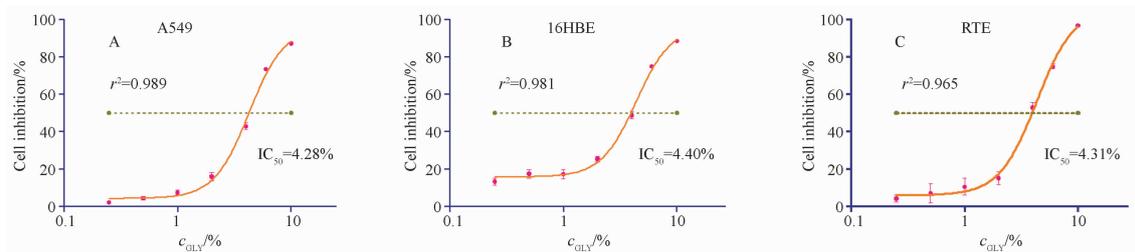


图2 Gly对A549、16HBE、RTE的抑制作用

A - Gly作用A549细胞后的抑制曲线; B - Gly作用16HBE细胞后的抑制曲线; C - Gly作用RTE细胞后的抑制曲线

Fig. 2 Effect on cell inhibition of A549、16HBE、RTE in Gly

A - cell inhibition curve of A549 in Gly; B - cell inhibition curve of 16HBE in Gly; C - cell inhibition curve of RTE in Gly

表3 Gly对A549、16HBE、RTE细胞抑制率.%, n=5, $\bar{x} \pm s$

Tab. 3 Cell inhibition of Gly in A549、16HBE、RTE. %, n=5, $\bar{x} \pm s$

Cells	Cell inhibition of different volume fraction						
	0.25%	0.50%	1.0%	2.0%	4.0%	6.0%	10%
A549	2.11 ± 1.49	4.42 ± 2.42	7.31 ± 2.95	15.99 ± 5.10 ¹⁾	42.90 ± 4.08 ²⁾	73.56 ± 0.90 ²⁾	87.31 ± 0.80 ²⁾
16HBE	13.32 ± 4.09	17.44 ± 5.06	17.29 ± 5.76	25.36 ± 3.73 ²⁾	48.74 ± 4.05 ²⁾	74.95 ± 1.12 ²⁾	88.63 ± 0.95 ²⁾
RTE	4.21 ± 4.27	7.04 ± 11.76	10.51 ± 10.07	15.1 ± 7.46	52.87 ± 5.72 ¹⁾	74.86 ± 2.74 ²⁾	96.77 ± 0.14 ²⁾

注:与阴性对照组相比,¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

Note: ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01, vs control group

注射器针筒中,在动物清醒或麻醉的状态下将给药针插入气管,通过推动注射器在适当压力下将药液或干粉转变成细小的液滴或微粉,推注进入动物气管深处完成给药^[7]。诸多文献报道采用这种气管内给药方式进行吸入药物的安全性和有效性研究,比如Liu等^[8]采用气管内雾化方式进行吸入布地奈德纳米悬浮液的药理、药动学研究;Du等^[9]应用该法研究环丙沙星肺部给药的剂型特性和血浆、肺组织及灌洗液的药动学等;Gupta等^[10]同法给药进行可吸入左氧氟沙星脂质体-溶菌酶的急性毒性研究;Lin等^[11]研究气管内给予粘菌素干粉制剂后上皮细胞衬液(ELF)的变化和血浆中粘菌素的药动学。

本实验室采用的气管内雾化方式即为上述气管内滴注方式,应用气管内微型雾化装置Microsprayer(Penn-Century's device),在异氟烷吸入麻醉的状态下完成给药。与此同时,同法气管内给予Evans蓝溶液,发现蓝色的溶液在肺部分布较为均匀。不仅如此,该给药方法还具有操作方便、简单易行,对动物伤害较小,可实现气管内多次重复给药的特点^[12]。本试验通过该法进行Gly的局部刺激性研究,组织病理学结果显示,与阴性对照组相比,Gly组出现极轻度到轻度的肺部炎症细胞浸润、血管周围炎;BALF检查结果显示,Gly组ALP水平显著升高,肺泡II型细胞受损,综上提示该剂量条件下Gly

对肺部具有轻微刺激性。

与此同时,为了更全面地评估吸入制剂辅料Gly的体外安全性,本实验室选取来源于不同种属不同部位的3种呼吸道细胞细胞株,A549、16HBE及RTE,采用MTT法研究Gly对这3种细胞株的体外细胞毒性。试验设置Gly给药组、空白组、阴性对照组,同时在测定光吸收值结果时选择更为科学和准确的双波长测定。由于细胞种类不同,其培养条件和最合适的检测波长皆存在差异,通过前期预试验探索得到其最佳检测波长(RTE、A549, 490 nm; 16HBE, 570 nm)及参比波长(630 nm)。另外,虽然在试验中为避免高血清对细胞的保护作用(影响结果判断),血清比例不宜过高(一般不大于10%),但是前期预试验发现血清比例较低时对RTE细胞影响较大,无血清时甚至出现大批细胞死亡的现象,推测由于该细胞本身培养条件对血清依赖性较高(20%),试验过程中不宜选择无血清或者较低的血清水平培养。通过预试验的摸索最终确定细胞的增殖期选用其最适血清条件培养(A549, 16HBE, 10% FBS DMEM; RTE, 20% FBS MEM),但是在配制系列Gly浓度时,分别选用无血清DMEM培养基(A549、16HBE)和5% FBS MEM培养基(RTE)作为稀释液,并且阴性对照组分别加入相应等量的上述稀释液。体外细胞试验研究结果表明,当体积分数达到一定值

时(A549, 16HBE, 2.0% ; RTE, 4.0%), Gly 会对3种细胞株产生显著的毒性作用,且毒性作用在0.25%~10%体积分数内存在量效关系,随着体积分数的增加,Gly对细胞的毒性作用增强。因此该结果提示,作为吸入制剂药用辅料的Gly应选择最佳的体积分数,以避免Gly带来的毒副作用或造成的药物筛选中的假阳性结果。

综上所述,本试验旨在通过体内局部刺激性和体外细胞毒性两个方面考察药用辅料Gly用于吸入制剂的安全性。通过动物试验中的组织病理学、肺泡灌洗液检查结果和细胞试验中的毒性测定结果发现,Gly在试验条件下对大鼠肺部具有轻微的刺激作用,且当体积分数达到一定值时会对呼吸道细胞产生显著的毒性作用,体内外试验结果均提示大剂量Gly可能会对肺部产生轻刺激性及毒性作用。本试验对Gly作为吸入制剂药用辅料的安全性研究作了初步的探索,后期仍需进行吸入Gly的长期毒性试验(获得NOAEL值),并结合WHO的每日摄入量(ADI),来确定吸入制剂产品中辅料Gly的使用限值。本试验为后续长期吸入Gly毒性试验的剂量设定提供依据和参考,为吸入制剂产品中药用辅料Gly的使用限值提供毒理学依据,其应用限值及深入的毒理学评价有待进一步开展。

REFERENCES

- [1] LEWIS D A, YOUNG P M, BUTTINI F, *et al.* Towards the bio-equivalence of pressurised metered dose inhalers 1: design and characterisation of aerodynamically equivalent beclomethasone dipropionate inhalers with and without glycerol as a non-volatile excipient[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2014, 86(1):31-37.
- [2] KUMAR A, AITAS A T, HUNTER A G, *et al.* Sweeteners, dyes, and other excipients in vitamin and mineral preparations. [J]. *Clin Pediatr (Phila)*, 1996, 35(9):443-450.
- [3] STANWICK R. E-cigarettes: are we renormalizing public smoking? Reversing five decades of tobacco control and revitalizing nicotine dependency in children and youth in Canada[J]. *Paediatr Child Health*, 2015, 20(2):101-105.
- [4] CARMINES E L, GAWORSKI C L. Toxicological evaluation of glycerin as a cigarette ingredient[J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43(10):1521-1529.
- [5] ALI M E, LAMPRECHT A. Spray freeze drying for dry powder inhalation of nanoparticles[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2014, 87(3):510-517.
- [6] WANG Q L. Nonclinical safety properties of glycerol[J]. *J Pharm Res(药学研究)*, 2013, 32(8):435-438.
- [7] JIN Y G, MIAO L I. Pulmonary drug delivery systems and progress in their applications to lung disease treatment[J]. *J Int Pharm Res(国际药学研究杂志)*, 2015, 42(2):289-295.
- [8] LIU T, HAN M, TIAN F, *et al.* Budesonide nanocrystal-loaded hyaluronic acid microparticles for inhalation: *in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 181: 1143-1152.
- [9] DU J, EL-SHERBINY I M, SMYTH H D. Swellable ciprofloxacin-loaded nano-in-micro hydrogel particles for local lung drug delivery[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2014, 15(6):1535-1544.
- [10] GUPTA P V, NIRWANE A M, NAGARSENKER M S. Inhalable levofloxacin liposomes complemented with lysozyme for treatment of pulmonary infection in rats: effective antimicrobial and antibiofilm strategy[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2018, 19(3):1454-1467.
- [11] LIN Y W, ZHOU Q T, HU Y, *et al.* Pulmonary pharmacokinetics of colistin following administration of dry powder aerosols in rats[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(11):00973-17.
- [12] WEI L I, SHENG Y H, AI H, *et al.* Intratracheal atomization of lipopolysaccharides induced lung inflammatory injury in rats model[J]. *Chin Pharm J(中国药学杂志)*, 2017, 52(6):457-461.

(收稿日期:2018-08-17)