

同步辐射 X 射线显微成像研究环糊精自组装 beads 的三维结构

段效晖^{1,2}, 伍丽², 李雪², 徐建², 张国庆^{1,2}, 李海燕², 覃伟²,
殷宪振^{2*}, 张继稳^{1,2*}

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201210)

摘要: 环糊精和油自组装形成的 beads 是一种新型的药物递送系统, 在油类药物固体化、改善脂溶性药物生物利用度方面具有较强的应用潜力, 但 beads 的形成机制仍不完善。本研究利用同步辐射 X 射线显微成像技术, 测定 beads 的三维结构, 基于对干燥前后 beads 结构的定量分析, 发现 beads 形成过程中 Pickering 乳滴的有序性。在添加脂溶性成分后, 油相的表面张力改变, 对 beads 的结构会产生影响。因此, 在载脂溶性维生素 K₁ 的过程中 beads 的三维结构会发生改变, 但依然可见 beads 形成过程中 Pickering 乳滴的有序性。本研究从 beads 内部三维结构出发, 揭示了环糊精半包合形成 Pickering 乳滴, 再有序聚集、组装形成 beads 的微观过程, 完善了 beads 的形成机制, 为 beads 的进一步研究提供了结构学基础。

关键词: beads; 环糊精; 同步辐射 X 射线显微成像技术; 三维结构; Pickering 乳; 维生素 K₁

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 02-0291-06

Three-dimensional structure of beads self-assembled by cyclodextrin using synchrotron radiation X-ray microcomputed tomography

DUAN Xiao-hui^{1,2}, WU Li², LI Xue², XU Jian², ZHANG Guo-qing^{1,2}, LI Hai-yan²,
QIN Wei², YIN Xian-zhen^{2*}, ZHANG Ji-wen^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China)

Abstract: Beads, a novel drug delivery system self-assembled by cyclodextrins (CDs) and oil, has potential applications in the solidification of oil drugs and improving the bioavailability of lipid-soluble drugs. However, very few researches were dedicated to the mechanism of beads formation. In this study, three-dimensional structures of beads were visualized and investigated using synchrotron radiation X-ray microcomputed tomography (SR- μ CT). The structural changes of beads attributed by drying process were analyzed and confirmed via visualization results of SR- μ CT. Productively, it was proposed that Pickering emulsion droplets obtained during beads formation process were spatially localized orderly. Moreover, the effects of loading lipid soluble drug, namely, vitamin K₁, on the structural changes of beads were also analyzed. It is well known that the surface tension of oil phase could be changed by the addition of lipid soluble constituents. It was reasonable that the three-dimensional structure of beads might be altered during the drug loading of vitamin K₁ into the beads. However, although the morphologies of beads were changed to some extent, the ordered Pickering emulsion droplets during the process of beads formation was successfully illustrated based on the SR- μ CT results.

收稿日期: 2017-10-09; 修回日期: 2017-11-27.

基金项目: 国家科技重大专项资助项目 (2017zx09101-001); 中国博士后科学基金资助项目 (2017M610284).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-20231980, E-mail: jwzhang@simm.ac.cn; xzyin@mail.shnc.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0989

Conclusively, according to the three-dimensional structural analysis of the beads, this study revealed the organized architecture for Pickering emulsion droplet assembly and beads formation in cyclodextrin semi-inclusion complex, which significantly complements the formation mechanism of beads, and provides a structural basis for the further study of beads.

Key words: beads; cyclodextrin; synchrotron radiation X-ray microcomputed tomography; three-dimensional; Pickering emulsion; vitamin K₁

据统计,近 90% 药物由于其水溶性差而影响其生物利用度,进而限制了药物的广泛应用^[1-3]。微乳/微粒体系作为常用的制剂载体,将药物部分或完全包裹于含有亲水基团的脂质中,以提高药物的吸收。基于环糊精/油的自组装 beads 给药系统兼具油、水两相,可在没有表面活性剂或有机溶剂的条件下,通过脂溶性药物溶于 beads 的内油相,实现油性药物固体化,从而解决药物在水性介质中溶解度差的问题,进而提高药物的生物利用度^[4-6]。环糊精/油 beads 作为一种自组装微粒系统,具有毫米粒径及复杂的内部囊腔结构。受技术手段所限,目前对于 beads 系统的认知还停留在基于光学显微镜^[4,5]和扫描电子显微镜(scanning electron micrograph, SEM)^[7]的外观形态定性描述或半定量分析。采用 SEM 证实 beads 为表面粗糙的球状颗粒^[8],若进一步研究其内部结构则必须剖开 beads 颗粒,这将造成内部细微结构的破坏;同时,高分辨 SEM 分析方法要求样品绝对干燥,而内部含有油相的 beads 很难达到;采用激光共聚焦显微镜^[6,9]可以观测 beads 的外部轮廓并实现内部腔室特征的半定量分析,但由于激光的强度/焦深有限,能够观测的深度也有限,且需要对 beads 的不同成分进行荧光标记;此外,也有文献^[10]报道利用 X 射线衍射法对 beads 的结构数据进行测定,但该方法的直观性较差。

同步辐射 X 射线显微断层扫描技术(synchrotron radiation X-ray microcomputed tomography, SR- μ CT)是一种新型的成像技术,相较于普通的 X 射线扫描技术,SR- μ CT 具有高空间分辨率、高物质区分度、结构信息可定量的特点,可在微米、亚微米级分辨率上展示物体内部三维形貌特征,高精度的结构特征定量表征参数,得到的参数更具有说服力^[11-15]。通过对采集的图片进行三维重建,得到不同成分在制剂中的静态形貌,再使用定量分析软件进行处理,可获得微米及纳米级的定量结构参数等具体数值,并同时获得固态制剂的内外部细致的结构信息,经过对信息的整合,可得到准确的定量数据^[16-18]。

本研究利用 SR- μ CT 获得空白 beads 自组装结构的 Slice 和三维形貌图像,结合三维重建分析其在干燥前后的结构变化,并基于得到的图像探究 beads 的形成机制。以脂溶性维生素 K₁ 为例,对比分析载药前后 beads 的结构变化,研究载维生素 K₁ 对 beads 形态结构的影响。

材料与方法

实验材料和仪器 α -环糊精(食品级,德国瓦克化学有限公司);大豆油(注射级,铁岭北亚药用油有限公司);维生素 K₁(安徽万和药物制剂有限公司);其他所有化学试剂均为分析纯。台式恒温振荡器(THZ-D,海门市其林贝尔仪器制造有限公司);CCD 探测器(pco.2000,德国 PCO-AG 公司);倒置显微镜(TS-100F,日本尼康株式会社);真空冷冻干燥机(FD5-3,美国金西盟国际集团)。

Beads 的制备 经过油与环糊精的种类和比例、制备温度和时间等处方工艺的考察,最优 beads 制备方法确定为:将 5.8 mL 大豆油均匀分散至 20 mL (8.1%, w/v) α -环糊精水溶液中,设置恒温振荡器的温度为 28 °C、搅拌速度为 200 r·min⁻¹,振荡 5 天。收集制备得到的 beads,冷冻干燥 48 h^[7]。将维生素 K₁ 溶解于大豆油中,采用同样的制备方法,得到载维生素 K₁ 的 beads。

Beads 的显微形态 取适量新制备的固液混合物,平铺于载玻片上,在光学显微镜下观察 beads 形态,确定其形状和尺寸。

SR- μ CT 样品的固定 选择胶囊壳为容器来固定样品,对于未干燥状态的 beads,利用液体或半固体之间的黏合力,将干燥前的 beads 固定到胶囊壳内壁。为避免 beads 内容物的挤出和外观的变形,小心地将 beads 稀疏地贴在胶囊内壳上。由于干燥后 beads 的刚度较好,将 beads 填充进胶囊壳即可实现固定。

SR- μ CT 图像采集 将装有 beads 的胶囊壳固定到 SR- μ CT 样品图像采集的旋转台上。依托于上海光源的 BL13W1 “X 射线成像及生物医学应用光束线

站”对 beads 进行图像采集, 得到 beads 的二维投射投影图像 (TOMO 图)。为获得 beads 最佳的吸收图像, 根据 beads 的组成, 基于预实验优化后的成像参数为: X 射线能量为 16.0 keV, 以分辨率为 7.4 μm 的 CCD 探测器对光信号进行采集, 采用 2 倍放大镜头, 有效分辨率为 3.7 μm , 曝光时间 2.0 s, 样品与探测器的距离为 12 cm。旋转台旋转 180° 完成 1 次 CT 图像采集, 共采集 720 张投影图像。每间隔 120 张投影图像采集 2 张白场图像 (即 X 射线光束路径上没有样品的图像), 最后采集 5 张暗场图像 (即 X 射线照射关闭的图像), 以校正电子噪声和 X 射线源亮度的变化, 优化采集图像的质量。

SR- μ CT 图像处理与定量分析 对同步辐射显微 CT 输出的 TOMO 图做进一步的处理, 以便对微观结构进行定量描述。为提高具有微小密度差异的不同材料间的区分度, 使用由上海光源开发的软件 PITRE (Phase-sensitive X-ray Image Processing and Tomography RE Construction) 进行同轴成像的相位恢复, 并重建投影图像、得到 Slice 图。使用 VG Studio Max (Version 2.1, Volume Graphics GmbH, Germany) 和 Image Pro Analyzer 3D (Version 7.0, Media Cybernetics, Inc., USA) 分析渲染三维数据, 构建立体结构模型以获得数据。

统计学方法 对图像中提取得到的定量结构参数采用 SPSS17.0 软件处理, 利用 t 检验分析考察数据之间差异性及相关性: 当 $P > 0.05$ 时, 认为两组数据间差异不具有显著性。

结果

1 Beads 的二维 Slices 结构

普通光学显微镜下, 干燥前空白和载维生素 K_1 的 beads 在乳液体系中外观均呈圆形或椭圆形。通过光学显微镜只能观察到 beads 的外部形状, 难以得到精细的内部结构和外部形貌。

基于 beads 与胶囊壳、空气三者对 X 射线的吸收差异性, 可实现对 beads 结构的识别 (图 1)。视野下的 beads 颗粒在干燥前后均具有相对均匀的形状和尺寸, 而 beads 内部各个区域的灰度值不均匀, 表明 beads 内部的材料分布不均匀。

干燥前后 beads 表面形态具有明显差异。对比 beads 的 Slices 图 (图 1), 可见干燥前空白 beads 表面粗糙, 黏附在胶囊内壁上, 表面有不规则的突起。而干燥后的 beads 沉积在胶囊壳底部, 其表面相对光滑, beads 之间相互挤压没有产生表面的形变, 可见 beads

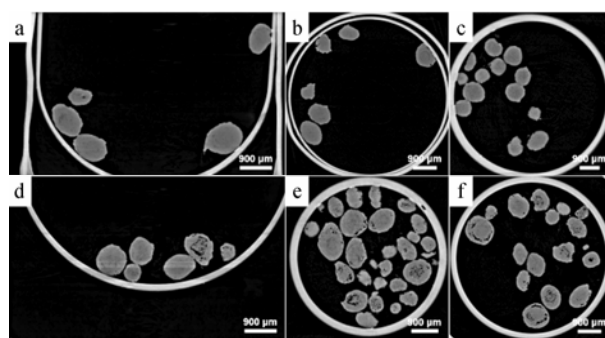


Figure 1 Slices of wet and dried blank beads. Wet beads (a, b, c) and dried beads (d, e, f)

的结构较为坚实。部分 beads 表面有向内凹陷的孔洞, 或在内部出现大的腔室结构, 此时依然可见 beads 内部灰度值的不均匀分布。

干燥前后 beads 的内部细微结构有明显区别。对比不同层面的 Slices 图 (图 1), 可见干燥过程会在 beads 内部形成孔洞结构。干燥前空白 beads 中几乎无内部孔洞, 干燥后 beads 中既可见一些灰度值较低的腔室结构, 又可见与外周区域灰度值接近的孔洞。这些孔洞圆形度较好, 分布在 beads 的中心区域或外周、与外界空气连通, 而结合 beads 的制备过程, 推测孔洞是由于干燥过程中水分流失形成的, 而干燥前 beads 中较低灰度值的圆形区域即代表被包封的水或油成分。

基于灰度着色 (从蓝色到红色代表密度逐渐增大), 选取具有代表性 beads 中间的 Slices 图进一步提取 beads 的内部结构 (图 2), 同时也可得到 beads 中不同材料的分布情况。对比着色后 Slices 图可见, 空白 beads 在干燥前中心蓝色区域面积较大, 表明干燥前 beads 的整体密度较低, 其中圆形度良好的深蓝色区域代表内部密度最低的腔室结构。干燥后 beads 蓝

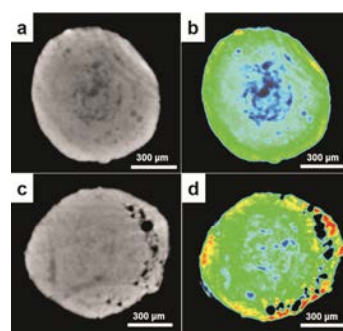


Figure 2 Internal structures of wet and dried blank beads before and after coloring based on grey level. Wet beads (a, b), dried beads (c, d), before coloring (a, c), after coloring (b, d). The jet color map ranges from blue to red, and passes through the colors cyan, yellow, and orange, representing the density from low to high

色区域变少、红色区域变多,认为是水分挥发后环糊精聚集导致其密度增大,进而推测 beads 在干燥后粒径会适当地缩小。干燥 beads 中深蓝色区域分区更加明显,可见该区域为被包裹的油成分,而干燥后形成的孔洞是由被包裹的水分子挥发所造成的,这样的孔洞不仅出现在靠近 beads 底部的位置,在其中部表层同样可以发现成型的孔洞,且有部分连通表面。

值得注意的是, beads 内部液滴位置的分布具有规律性,明显可见靠近外周的液滴排布呈现漩涡状,推测这与 beads 的形成机制有关。

2 Beads 的内部三维结构

渲染三维图像得到干燥前后空白 beads 的内部结构见图 3。干燥前 beads 内部液滴之间连接较多,而干燥后 beads 内部液滴之间更为分散,且部分与表面相连通的腔室内部液体挥发,形成孔洞。经图像处理,可见干燥后 beads 内部仍有未挥发的液滴,依然被很好地保留在 beads 中,表明 beads 的坚固外壳对部分油滴有较好的保护作用。观察 beads 内部腔室的分布规律,可清晰地看到液滴集中在 beads 中心,并从中心向外周环绕,呈现单层面的漩涡状排列方式。对比干燥前后的外观形态,可见空白 beads 干燥前外观形态较为规整,而干燥后表面凹陷、出现坑洞。通过定量数据计算可得,空白 beads 的球形度干燥前为 0.92 ± 0.01 ($n=10$),干燥后为 0.90 ± 0.04 ($n=10$),相比之下,干燥前 beads 的平均球形度更接近于 1,认为干燥前的球形度更高,但两组数据之间 t 检验结果表明没有明显差异 ($P=0.258$);干燥前后 beads 的半径比: 1.74 ± 0.02 ($n=10$)、 1.79 ± 0.27 ($n=10$),可见干燥前 beads 的半径比更接近于 1,但两组数据之间 t 检验结果没有明显差异 ($P=0.615$)。

3 Beads 形成机制探究

已有文献^[4, 6, 7]对 beads 的形成机制进行了描述:

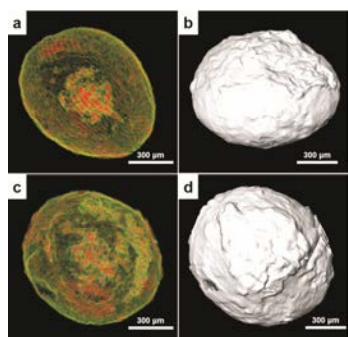


Figure 3 The 3D structures of droplets and chambers in the wet and dried blank beads. Wet beads (a, b), dried beads (c, d). Perspective drawing of beads (a, c), the surface of beads (b, d)

振摇时从乳液中析出环糊精部分结构和油分子形成半包合物或超分子晶体物质,该固体颗粒吸附在油滴的表面形成 Pickering 乳滴,经外力不断振摇,该种晶体物质在油滴表面聚集、油滴之间团聚,直至形成坚硬的 beads 颗粒,由于其性质上相对稳定,可以起到稳定 beads 内部油滴的作用。但对于尺寸较小的 Pickering 乳滴是如何聚集形成 beads,并没有文献报道。从 Slices 图的动态解析中可见, beads 内部油滴的分布呈现出一定的规律性:油滴集中在 beads 的中心位置,并在某一平面上向外呈漩涡状扩展,部分油滴连通至 beads 表面(图 4),形成 beads 表面的孔洞以及与外界相连通的腔室。在对多个 beads 的不同层面 Slices 图的比较中,可推测这样的内部结构和 beads 的形成机制是密不可分的。

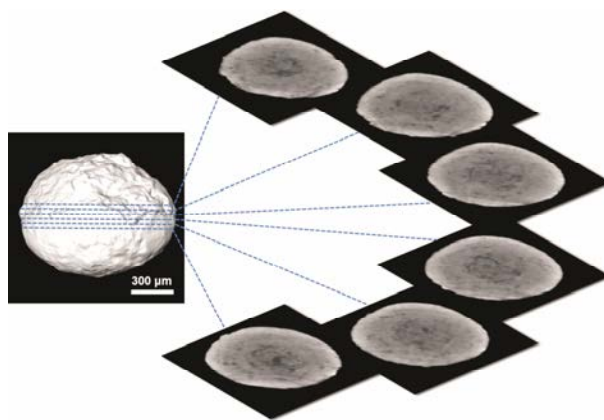


Figure 4 The slices of wet beads. The extracted slices from bottom to up are the 90, 100, 105, 110, 115, 130th of the total 205 slides

结合 beads 的制备过程,分析 beads 的形成机制(图 5)可知:油水混合物在振荡过程中,环糊精和大豆油中的甘油三酯结合,最先形成半包合物并析出超分子晶体。这些超分子物质的亲油基团吸附在油滴表面,亲水基团向外,形成相对稳定的 Pickering 乳滴。进一步的振摇使得 Pickering 乳滴团聚,部分 Pickering 乳滴之间会发生融合,聚集成更大的乳滴参与团聚。由于内部的油滴变大,整体的比表面积变小,导致形成大乳滴所需的固体颗粒变少,多余的颗粒可能会堆积在乳滴表面,这样的形成方式也可以解释 beads 内部每层油滴之间距离较远的现象。持续的振摇形成 beads 最初的核心部分,新的乳滴不断地团聚在初生 beads 的表面并逐渐形成肉眼可见的 beads 颗粒。并且可认为在振摇制备过程中, beads 的滚动方向较为单一,在内核形成后不断地在某一平面上滚动并团聚乳滴,进而推测在一定范围内 beads

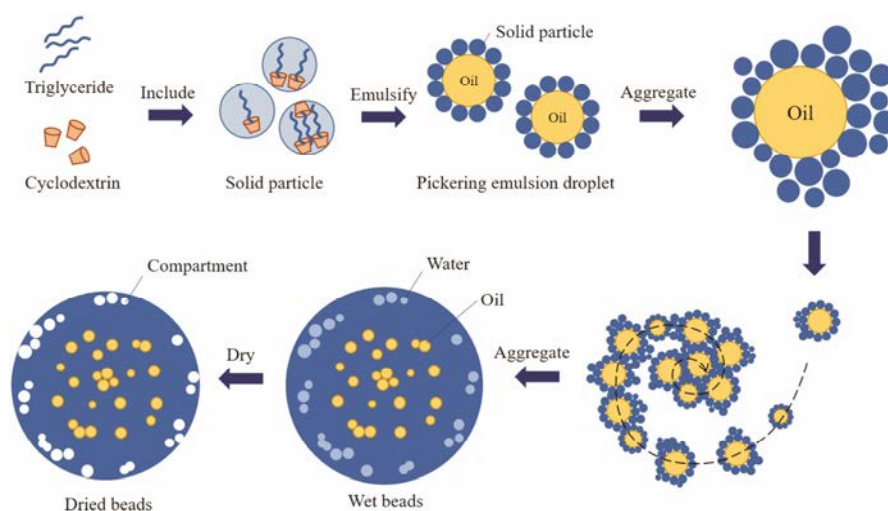


Figure 5 Hypothesis for the formation process of beads by cyclodextrins and triglycerides in soybean oil

的含油量会随着振荡时间的延长而逐渐加大。

4 载药对 beads 形成机制的验证

本研究选择脂溶性药物维生素 K_1 作为模型药物, 考察载药 beads 的形成机制。将维生素 K_1 加到油相中, 按相同的方法制备得到载药 beads。通过 SR- μ CT 观察干燥后载药 beads 的二维结构 (图 6a, b), 可见其形态与空白 beads 有较大的差异性。对基于灰度值着色 (从蓝色到红色代表密度逐渐增大) 后的载药 beads 进行分析 (图 6b), 其内部的对比度相较于空白 beads 明显增大, 表明载药后 beads 内部的密度差异更大, 其表面可见红色区域, 同时 beads 内部存在明显的蓝色区域, 说明聚集在表面的环糊精较空白 beads 更为密集。由于油相中含维生素 K_1 , 油相的表面张力改变, 油滴的体积增大而比表面积减小, 即 Pickering 乳滴变大, 形成乳滴所需的环糊精量减少, 从而单个 beads 里可包裹更多的油分子, 形成如图 6b 中的形态。

在渲染得到载维生素 K_1 的 beads 三维图像中 (图 6c, d), 可明显看到载维生素 K_1 后 beads 的外部形态不规则, 外观更为皱缩, 表面崎岖, 球形度较低, 其粒径相对于空白 beads 略小。通过定量数据计算可得, 载维生素 K_1 的 beads 球形度为 0.67 ± 0.03 ($n=10$), 其半径比为 5.65 ± 2.92 ($n=10$)。对比干燥前空白 beads 的球形度 (0.92 ± 0.01 , $n=10$) 和半径比 (1.74 ± 0.02 , $n=10$), 经 t 检验两组数据均具有明显差异 ($P < 0.01$), 故载药后 beads 的球形度降低。

对比空白 beads 和载维生素 K_1 的 beads 三维图像, 可见空白 beads 内部腔室之间相对独立, 而载维生素 K_1 的 beads 内部液滴分布更为集中, 部分腔室相互连接形成较大的液滴腔室, 且内部没有发现明显

的水分干燥后形成的孔洞, 油滴相对集中于 beads 的中心位置, 但仍可见漩涡状的液滴排布 (图 6c), 说明在振摇的过程中, 由于油相表面张力的变化, 乳滴之间发生了进一步的聚集, 最终形成了比空白 beads 中粒径更大的内部油滴。

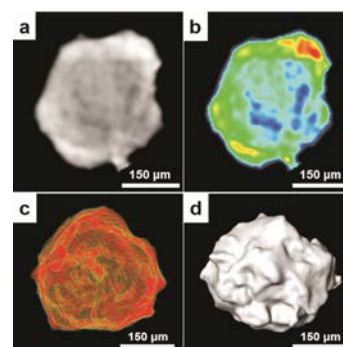


Figure 6 Internal 3D structures of beads loaded with vitamin K_1 . Wet beads loaded with vitamin K_1 before (a) and after (b) coloring based on grey level. The jet color map ranges from blue to red, and passes through the colors cyan, yellow, and orange, representing the density from low to high. Internal structure (c) and the surface (d) of dried beads loaded with vitamin K_1

讨论

环糊精是一种可用于载药的基础材料, 而 beads 是一种新型载体, 对于其形成机制的研究, 大多数文献均认可从半包合物的形成到 Pickering 乳滴的形成, 但这样的形成机制并不完善, beads 形成机制的不明确限制了该剂型的进一步发展。SR- μ CT 作为一种原位、无损的检测工具, 在 beads 外观形态及内部精细结构的表征上发挥了重大的作用, 能够多层次多角度地观测 beads 形态结构, 为探索其在形成过程中可能遵循的机制提供了可能。通过 SR- μ CT 对 beads 三

维图像分析, 不仅可以清晰地看到 beads 表面的形态, 更能够深入观察 beads 内部液滴腔室的分布情况。本研究从 beads 内部结构出发, 揭示了由环糊精半包合形成 Pickering 乳滴, 再有序聚集、组装形成 beads 的过程, 完善了 beads 的形成机制。经过载药实验验证, 载脂溶性维生素 K₁ 的 beads 透视图依然可见乳滴的形成规律, 同时揭示了油相表面张力的改变对 beads 形态结构的影响。

References

- [1] Esposito E, Drechsler M, Mariani P, et al. Lipid nanoparticles for administration of poorly water soluble neuroactive drugs [J]. *Biomed Microdevices*, 2017, 19: 44–58.
- [2] Al-Kassas R, Bansal M, Shaw J. Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs [J]. *J Control Release*, 2017, 260: 202–212.
- [3] Coviello V, Sartini S, Quattrini L, et al. Cyclodextrin-based nanosponges for the targeted delivery of the anti-estenotic agent DB103: a novel opportunity for the local therapy of vessels wall subjected to percutaneous intervention [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, 117: 276–285.
- [4] Inoue M, Hashizaki K, Taguchi H, et al. Preparation and characterization of *n*-alkane/water emulsion stabilized by cyclodextrin [J]. *J Oleo Sci*, 2009, 58: 85–90.
- [5] Trichard L, Fattal E, Le Bas G, et al. Formulation and characterisation of beads prepared from natural cyclodextrins and vegetable, mineral or synthetic oils [J]. *Int J Pharm*, 2008, 354: 88–94.
- [6] Hamoudi MC, Bourasset F, Domergue-Dupont V, et al. Formulations based on alpha cyclodextrin and soybean oil: an approach to modulate the oral release of lipophilic drugs [J]. *J Control Release*, 2012, 161: 861–867.
- [7] Bochot A, Trichard L, Le Bas G, et al. α -Cyclodextrin/oil beads: an innovative self-assembling system [J]. *Int J Pharm*, 2007, 339: 121–129.
- [8] Osmalek T, Milanowski B, Froelich A, et al. Design and characteristics of gellan gum beads for modified release of meloxicam [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2017, 43: 1314–1329.
- [9] Hamoudi M, Fattal E, Gueutin C, et al. Beads made of cyclodextrin and oil for the oral delivery of lipophilic drugs: *in vitro* studies in simulated gastro-intestinal fluids [J]. *Int J Pharm*, 2011, 416: 507–514.
- [10] Trichard L, Chaminade P, Grossiord JL, et al. Beads made of α -cyclodextrin and vegetable oils: oil composition and physicochemical properties influence bead feasibility and properties [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2011, 21: 189–194.
- [11] Yang S, Yin XZ, Li HY, et al. Research progress on architecture of dosage forms using synchrotron radiation X-ray microtomography [J]. *Chin Bull Life Sci (生命科学)*, 2013, 25: 794–802.
- [12] Zeitler JA, Gladden LF. *In vitro* tomography and non-destructive imaging at depth of pharmaceutical solid dosage forms [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71: 2–22.
- [13] Li HY, Yin XZ, Ji JQ, et al. Microstructural investigation to the controlled release kinetics of monolith osmotic pump tablets *via* synchrotron radiation X-ray microtomography [J]. *Int J Pharm*, 2012, 427: 270–275.
- [14] Wu L, Wang ML, Singh V, et al. Three dimensional distribution of surfactant in microspheres revealed by synchrotron radiation X-ray micro computed tomography [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2017, 12: 326–334.
- [15] Zhang J, Meng F, Xiao T. Structure based strategy for consistency evaluation of dosage forms [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 659–666.
- [16] Chen L, Wang LY, Yin XZ, et al. Identification of the polymorphs of clopidogrel bisulfate based on the steric morphology parameters of crystals [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2013, 48: 1459–1463.
- [17] Lu XL, Zheng Q, Yin XZ, et al. Quantitative structure characteristics and fractal dimension of Chinese medicine granules measured by synchrotron radiation X-ray computed micro tomography [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2015, 50: 767–774.
- [18] Yang S, Wang CF, Li X, et al. Release kinetics of single pellets and the multi-pellet system of tamsulosin hydrochloride sustained release pellets [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 535–542.