

· 论著 ·

难溶性药物 log *P* 值对纳米脂肪乳载药特性的影响

陈丽娜, 陈建明 (第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433)

[摘要] **目的** 考察难溶性药物油/水分配系数(log *P* 值)对纳米脂肪乳载药量、体外释药特性、相分布等载药特性的影响。**方法** 选取6种难溶性药物:尼莫地平(NIM)、多西紫杉醇(DTX)、姜黄素(CUR)、紫杉醇(PTX)、替尼泊苷(TEN)、水飞蓟宾(SLB),分别考察其log *P* 值与PEG400中溶解度、载药纳米脂肪乳的载药量、粒径、Zeta电位、体外释药特性以及相分布等的关系。**结果** 随着log *P* 值的增加,药物在PEG400中的溶解度呈先上升后下降的趋势,在纳米脂肪乳中的载药量增高,体外释放速率减慢,在油相中的分布增加,在乳化剂层的分布减小;药物log *P* 值与载药纳米脂肪乳的粒径及Zeta电位无关。**结论** 可综合考虑药物的log *P* 值及PEG400中的溶解度,用以初步判断纳米脂肪乳的载药特性。

[关键词] 脂肪乳;难溶性药物;log *P* 值;载药特性

[中图分类号] R94;O647.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2015)06-0513-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.06.009

The influence of log *P* value of insoluble drugs on drug-loading properties of nano-lipid emulsion

CHEN Lina, CHEN Jianming (Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To study the influence on common logarithm of partition-coefficient (log *P*) value of insoluble drugs on nano-lipid emulsion properties, including drug-loading amount, *in vitro* release, and phase distribution etc. **Methods** 6 insoluble drugs, nimodipine (NIM), docetaxel (DTX), curcumin (CUR), paclitaxel (PTX), teniposide (TEN), silybin (SLB), were selected as the model drugs, to investigate the relationship between log *P* value and nano-lipid emulsion of the dissolubility in PEG400, the amount of drug-loading, particle diameter, Zeta potential, *in vitro* release, and phase distribution respectively. **Results** With the increase of log *P* value, drug solubility in PEG400 first increased and then decreased, drug-loading in nano-lipid emulsion increased, release rate *in vitro* of drug slowed down, drug distribution in oil phase increased while in emulsion layer decreased. Log *P* value has no correlation with particle diameter and Zeta potential. **Conclusion** The properties of drug-loading nano-lipid emulsion can be preliminarily judged by log *P* values and the solubility in PEG400 of drugs.

[Key words] lipid emulsion; insoluble drug; log *P* value; drug-loading properties

本课题组前期在国家重大新药创制“十一五”科技重大专项基金(2009ZX09301-011)的资助下,以紫杉醇为模型药物,创造性地发明了一种基于纳米脂肪乳介导的难溶性药物注射给药系统技术,在前期研究中发现该给药系统在紫杉醇注射给药方面体现了前所未有的优势^[1]:①载药量高,完全能满足临床剂量需要;②制备工艺简单,操作简便,可满足工业化生产;③可作为营养剂,用药安全性好;④可降

低药物的肝、脾毒性,提高疗效;⑤紫杉醇 PEG400 溶液稳定性好。

鉴于这些优势,笔者希望能够构建一个难溶性药物注射给药系统的通用技术平台,扩大该技术在难溶性药物中的应用。由于油/水分配系数(log *P* 值)是难溶性药物的特征指标,笔者选取6种难溶性药物:尼莫地平(NIM)、多西紫杉醇(DTX)、姜黄素(CUR)、紫杉醇(PTX)、替尼泊苷(TEN)、水飞蓟宾(SLB),以log *P* 值为参数,分别考察其与PEG400中溶解度、载药纳米脂肪乳的载药量、粒径、Zeta电位、体外释药特性以及相分布等的关系,考察不同性质药物对载药特性的影响,为不同log *P* 值的难溶性药物能否采用该技术制备成为稳定的载药纳米脂

[基金项目] 上海市纳米专项(No.12nm0501000)

[作者简介] 陈丽娜,硕士研究生.E-mail:yaodaChenlina@163.com

[通讯作者] 陈建明,教授,博士生导师.研究方向:药物新剂型与新技术.E-mail:yjcm@163.com

肪乳剂提供依据,从而为更多难溶性药物实现注射给药打下坚实的基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪(Agilent 公司);Ultimate XB-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm,Ultimate 公司);SYC-A 回旋水浴恒温振荡器(上海新苗医疗器械制造有限公司);Milli-QUF-PLUS 纯水仪(美国 Millipore 公司);TH-3560 高压灭菌锅(鑫科企业有限公司);JRJ-300-I 高速剪切机(上海标本与模型制造厂);M-110EH 高压均质机(美国 Mirofluidics 公司);NANO-ZS 90 型 Zeta sizer 分析仪(英国马尔文仪器公司);ZRS-8G 智能溶出试验仪(上海黄海药检仪器有限公司);Cs120 GX II 微量-超速离心机(日本 Hitachi 公司)。

1.2 主要材料和试剂 PEG400(中国医药集团上海化学试剂公司);紫杉醇(重庆美联制药公司,纯度 ≥ 98%);多西紫杉醇(重庆美联制药公司,纯度 ≥ 98%);姜黄素(四川金郁金科技开发有限公司,纯度 ≥ 98%);替尼泊苷(武汉欣欣佳利生物科技有限公司,纯度 ≥ 98%);尼莫地平(大连美仑生物科技有限公司,纯度 ≥ 98%);水飞蓟宾(天士力现代中药研究所,纯度 ≥ 98%);中/长链脂肪乳注射液(广州百特侨光医疗用品有限公司,批号:GM1101002);乙腈、甲醇(色谱纯,德国默克公司);正辛醇、无水乙醇、HCl、NaCl、KCl、Na₂HPO₄ · 12H₂O、KH₂PO₄(中国医药集团上海化学试剂公司);0.22 μm 及 0.45 μm 膜过滤器(美国 Pall 公司);透析袋(MWCO: 12000, 美国 Spectrum Medical Industries 公司)。

2 方法

2.1 log P 值的测定^[2] 将正辛醇-水以 1 : 5 (V/V) 混合,置于水浴恒温振荡器(25 ± 0.1) °C 中,以 120 r/min 振荡 48 h,使正辛醇和水的分配达到平衡,于分液漏斗中静置 2 h 使其完全分层,上层为水饱和的正辛醇相,下层为正辛醇饱和的水相,分别收集正辛醇相和水相于 2 个玻璃瓶中,备用。

分别称取适量的 NIM、DTX、PTX、CUR、TEN、SLB,使其溶于 50 ml 正辛醇相中,得溶有药物的正辛醇相溶液,取适量该溶液并用甲醇稀释至一定倍数,HPLC 测得药物的总浓度 C₀。取溶有药物的正辛醇相溶液 10 ml 于玻璃瓶中,加入 50 ml 水相,置于水浴恒温振荡器(25 ± 0.1) °C 中,以 120 r/min 振荡 48 h,使分配达到平衡,静置 2 h 使

溶液分层。取适量上层正辛醇相,甲醇稀释至一定倍数,HPLC 测得药物在正辛醇相中的浓度 C₁,计算 log P 值。 $P = 5 \times C_1 / (C_0 - C_1)$ 。

2.2 PEG400 中溶解度的测定^[3] 分别将过量的 NIM、DTX、PTX、CUR、TEN、SLB 与 PEG400 混合,涡旋 5 min,置于水浴恒温振荡器(25 ± 0.1) °C 中,以 120 r/min 振荡 48 h,使药物在 PEG400 中的溶解达到平衡,离心机中 8 000 r/min 离心 10 min,取上清液适量置于 25 ml 容量瓶中,异丙醇溶解并稀释至刻度后,HPLC 进样,计算各药物在 PEG400 中的平衡溶解度。

2.3 载药量的测定

^[1]

2.3.1 含药 PEG400 溶液的配制 分别称取一定量的 NIM、DTX、PTX、CUR、TEN、SLB 于 20 ml PEG400 中,加热使之溶解,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,分装,高压蒸汽(121 °C)灭菌 15 min,分别得上述各药一系列梯度浓度的 PEG400 溶液。

2.3.2 载药乳剂的制备 按“2.3.1”项下操作,配制一定浓度的含药 PEG400 溶液,将 4 ml 药物的 PEG400 溶液注入 96 ml 空白乳剂(中/长链脂肪乳注射液)中,轻摇数次至分散均匀,得载药纳米脂肪乳剂。

2.3.3 载药量的测定 按“2.3.2”项下操作,得上述各药不同载药浓度的载药乳剂。分别于 0、3、6、8、10、12 h 取适量载药乳剂,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液 0.4 ml 于 10 ml 容量瓶中并精密称重,异丙醇溶解并稀释至刻度后进样。将 0 h 样品溶液中的药物含量设为 100%,其他时间点的药物含量均与 0 h 的药物含量相除,即得其他各时间点的药物含量相对百分比。以 10 h 内药物的含量下降 2% 作为判断载药乳剂物理稳定性的临界指标,确定各药物载药乳剂的最大载药量。

2.4 粒径和 Zeta 电位的测定 按“2.3.2”项下操作,分别配制备载 NIM、DTX、PTX、CUR、TEN、SLB 的载药脂肪乳剂(0.4 mg/ml)。用双蒸水稀释 100 倍,采用马尔文粒径测定仪测定粒径和 Zeta 电位。

2.5 体外释药特性的测定^[4] 同“2.4”项下配制备载药脂肪乳剂(0.4 mg/ml)。分别精密量取 1.0 ml 载药脂肪乳剂于已处理好的透析袋中,放入装有 250 ml PBS 溶液(pH 值 7.4,含 20% 乙醇)的溶出杯中,在药物溶出仪中于 37 °C、100 r/min 下进行实验。分别于 0、0.5、1、2、4、6、8、10、12 h 取 4 ml 样品溶液,同时立即补加 4 ml 新鲜空白 PBS 溶液。样品溶液经 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液 HPLC 进样,测定药物浓度,并计算药物的累积释放率。以时

间为横坐标,累积释放率为纵坐标,绘制体外释放曲线。

2.6 相分布的测定^[5] 按“2.3.2”项下操作,配制上述各药的载药脂肪乳剂(0.4 mg/ml)。

2.6.1 乳剂中药物总含量的测定 分别精密量取载药乳剂 0.4 ml,异丙醇溶解后稀释至 10 ml, HPLC 测定药物浓度,计算各载药乳剂中药物的总含量。

2.6.2 水相中药物含量的测定 分别取载药乳剂适量,于超速离心机中以 22 000 r/min 离心 3 h,使乳剂分为油、水、乳化剂 3 层。用注射器取下层水相,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液 HPLC 测定药物浓度,得各水相中药物的含量。

2.6.3 油相中药物含量的测定 同“2.6.2”项下方法使乳剂分为 3 层,取上层油相适量,用异丙醇溶解并稀释适当倍数, HPLC 测定药物浓度,得各油相中药物的含量。

2.6.4 乳化剂层中药物含量的测定 载药乳剂中药物总含量与油相、水相中药物含量之和的差值,即为乳化剂层中药物的含量。

2.7 HPLC 方法 色谱条件:色谱柱:Ultimate C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。NIM、DTX、PTX、CUR、TEN、SLB 的流动相分别为:甲醇-乙腈-水(35:38:27,V/V/V)、甲醇-乙腈-水(42:34:24,V/V/V)、甲醇-乙腈-水(38:38:24,V/V/V)、乙腈-水(含 2% 冰醋酸)(65:35,V/V)、乙腈-水(45:55,V/V)、甲醇-水-0.5 mol/L KH₂PO₄(55:40:5,V/V/V)。上述各药的检测波长分别为:237、232、227、426、230 和 288 nm。

3 结果

3.1 油/水分配系数 log P 值的测定结果 log P 值由大到小依次为:NIM>DTX>PTX>CUR>TEN>SLB。具体结果详见表 1。

表 1 药物的油/水分配系数、PEG400 中溶解度、载药量(n=3)

药物名称	Log P 值	PEG400 中溶解度 (mg/g)	载药量 (mg/ml)
NIM	2.92±0.024	24.71±0.22	3.5
DTX	2.75±0.047	140.40±1.01	2.5
PTX	2.57±0.120	185.40±2.04	1.3
CUR	2.15±0.024	128.10±0.92	2.0
TEN	1.22±0.015	25.25±0.25	0.4
SLB	0.95±0.110	186.10±1.71	0.4

3.2 PEG400 中溶解度的测定结果 各药物在 PEG400 中的平衡溶解度测定结果见表 1。PTX 和 SLB 在 PEG400 中溶解度较高,NIM 和 TEN 在 PEG400 中溶解度较低。log P 值与 PEG400 中溶解度的关系见图 1,结果显示,除 SLB 以外,其他药物在 PEG400 中的溶解度随着 log P 值的增大呈现先增加后降低的趋势,即 log P 值在 0.95~2.92 的范围内,药物在 PEG400 中的溶解度随着 log P 值的增大而增大,当 log P 值超过这一限度后,药物在 PEG400 中的溶解度将随 log P 值的增大而减小。

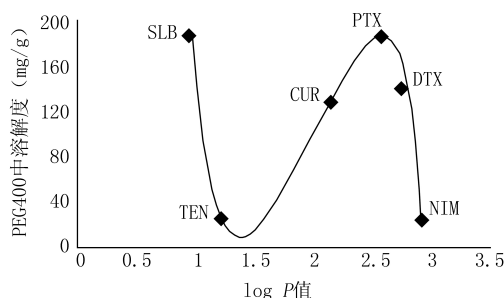


图 1 PEG400 中溶解度与 log P 值的关系

3.3 载药量的测定结果 以 10 h 内药物的含量下降 2% 作为判断载药乳剂物理稳定性的临界指标,确定各药物载药乳剂的最大载药量,结果见表 1。log P 值与载药量的关系见图 2,从整体趋势看,log P 值越大,载药量越大。

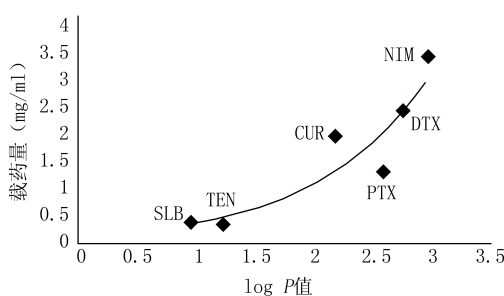


图 2 载药量与 log P 值的关系

3.4 粒径和 Zeta 电位的测定结果 粒径和 Zeta 电位的测定结果见图 3 和表 2,DTX、PTX、CUR、TEN、SLB 的粒径分布和 Zeta 电位图结果与 NIM 相同,故未列出。结果表明,6 种药物的粒径无显著差异,说明药物 log P 值对乳剂的粒径无影响。6 种药物的 Zeta 电位均在一 50 mV 左右,不同的药物有细微差别,可能是由于药物的解离性质等有差异。乳剂的粒径及 Zeta 电位与载入的药物 log P 值无关,在一定载药量范围内也与载药量无关。

3.5 体外释药特性的测定结果 体外释药特性的

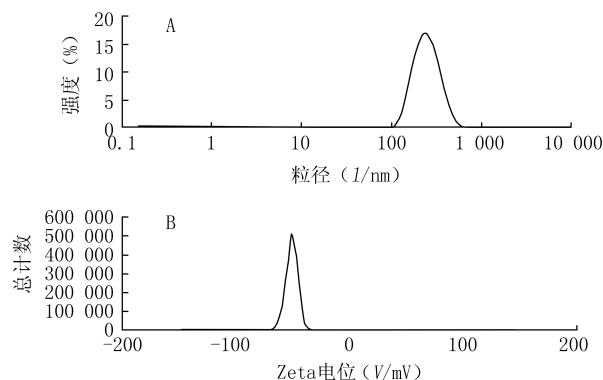


图3 NIM的粒径分布(A)和 Zeta 电位(B)

表2 药物粒径和 Zeta 电位的测定结果

药物名称	粒径 (I/nm)	Zeta 电位 (V/mV)
NIM	223.51±3.07	-51.50±2.24
DTX	224.26±3.41	-50.33±1.73
PTX	227.80±3.03	-48.61±1.07
CUR	226.22±1.48	-52.96±1.60
TEN	224.95±2.96	-46.43±1.24
SLB	223.38±3.53	-49.41±1.49

测定结果见图4。在12 h时,载 NIM、DTX、PTX、CUR、TEN、SLB 的载药脂肪乳剂的累积释放率分别为(35.02±0.90)%、(45.54±0.54)%、(53.35±1.20)%、(70.90±1.68)%、(79.07±1.04)%、(90.70±2.55)%。log P 值越大,累积释放率越小,体外释放越缓慢。

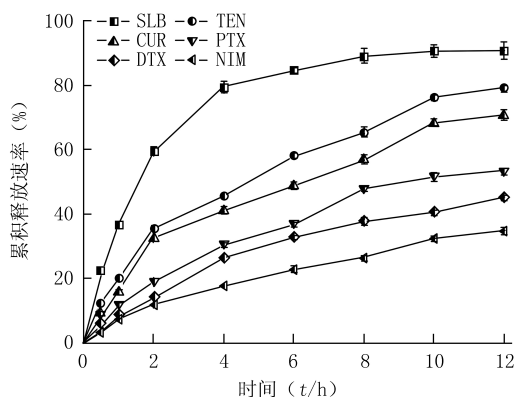


图4 药物体外释放曲线(n=3)

3.6 相分布的测定结果 相分布的测定结果见表3。药物在乳剂中分为3个部分:油相、油水界面层(乳化剂层)、水相,绝大部分药物分布于油相和乳化剂层中,很少分布在水相中。结果显示,NIM 在油相中分布最高,而 SLB 在油相中分布最少。从整体趋势看,log P 值越大,药物在油相中的分布越多,但 DTX 不符合此趋势,可能跟药物自身的理化性

质有关。

表3 载药乳剂的相分布(n=3)

药物名称	理论载药浓度 (ρ_B / mg · ml ⁻¹)	实测载药浓度 (ρ_B / mg · ml ⁻¹)	药物含量(%)		
			油相	水相	乳化剂层
NIM	0.40	0.407	83.10±0.65	2.43±0.02	14.47±0.63
DTX	0.40	0.402	12.71±0.15	4.92±0.69	82.37±0.03
PTX	0.40	0.405	50.29±2.38	1.34±0.47	48.37±1.52
CUR	0.40	0.401	59.19±1.32	4.45±0.09	36.36±1.41
TEN	0.40	0.405	13.81±0.70	9.26±1.85	76.93±1.15
SLB	0.40	0.394	10.18±0.46	3.43±0.76	86.39±1.22

4 讨论

Log P 值是难溶性药物的特征指标,用来衡量药物分子的亲水/亲油性^[6],即药物的 log P 值越大,说明该药的亲油性越强。PEG400 为两亲性溶剂,在水相和油相中均有一定的溶解度,水溶性高于脂溶性。药物的溶解性主要取决于溶质和溶剂间相互作用的强弱,相互作用强则易溶,相互作用弱则难溶。相互作用的强弱主要取决于溶质与溶剂的极性、介电常数、溶剂化作用、缔合、形成氢键等因素^[7]。药物在 PEG400 中的溶解度与药物本身的结构等性质以及药物分子与 PEG400 分子间的相互作用力(如氢键、范德华力等)有关。药物分子与 PEG400 分子间的相互作用可能是 PEG400 的水溶性和脂溶性共同作用的结果。例如,SLB 的 log P 值最小,在 PEG400 中的溶解度却很大,这可能与 SLB 分子自身的特殊性质有关。SLB 分子中含有较多的-OH,能与 PEG400 分子形成较强的氢键,增大了其在 PEG400 中的溶解度。

载药量的测定结果显示,随着药物 log P 值的增大,载药量有明显的上升趋势,但有个别药物不符合此规律,如 CUR 和 PTX,PTX 的 log P 值比 CUR 大,但其载药量却低于 CUR,其原因可能是磷脂对 CUR 具有增溶作用,可增大 CUR 在乳化剂层的含量并使之稳定^[8,9]。

体外释药特性的测定中,需选用相同的溶出介质,比较6种药物的体外释放速率。在前期预实验中,曾采用 PBS 溶液(pH 值 7.4,含 1% 吐温-80),但是 CUR 在该条件下无法溶出,而改用 PBS 溶液(pH 值 7.4,含 20% 乙醇)作为介质时,可满足各药的实验条件,故采用上述溶液作为溶出介质。

综上所述,本研究以药物在 PEG400 中溶解度、载药量、粒径、Zeta 电位、体外释药特性以及药物在

油、水、乳化剂三相中的分布等指标与药物 log P 值的关系,考察难溶性药物对载药特性的影响;难溶性药物的 log P 值越大,脂溶性越强,在油相中分布越多,乳剂稳定性越好,载药量越高。可以综合难溶性药物的 log P 值及 PEG400 中的溶解度,确定载药乳剂的载药量范围、体外释药特性及相分布,从而初步判断载药乳剂的载药特性。

【参考文献】

[1] Jing X, Deng L, Gao B, *et al.* A novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion as drug delivery carrier for paclitaxel[J]. *Nanomedicine*, 2014, 10(2): 371-380.
[2] 张婷婷,徐文,胡生亮,等.水飞蓟宾在不同介质中平衡溶解度和表观分配系数的测定[J].*中国药学杂志*,20006,41(20): 1569-1571.
[3] Setthacheewakul S, Mahattanadul S, Phadoongsombut N, *et al.* Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin, and absorption studies in rats[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(3): 475-485.
[4] Shaikh J, Ankola DD, Beniwal V, *et al.* Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-

fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 37(3-4): 223-230.
[5] 高晓黎,孙殿甲,程利勇,等.去氢骆驼蓬碱注射用乳剂中药物的相分布和体外释放研究[J].*中成药*,2000,22(2):111-115.
[6] Korinth G, Wellner T, Schaller K. H, *et al.* Potential of the octanol-water partition coefficient (logP) to predict the dermal penetration behaviour of amphiphilic compounds in aqueous solutions[J]. *Toxicol Lett*, 2012, 215(1): 49-53.
[7] 苏德森,王思玲.物理药剂学[M].北京:化学工业出版社,2004:78-92.
[8] Maiti K, Mukherjee K, Gantait A, *et al.* Curcumin-phospholipid complex: preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats[J]. *Int J Pharm*, 2007, 330(1-2): 155-163.
[9] Zanotto-Filho A, Coradini K, Braganhol E, *et al.* Curcumin-loaded lipid-core nanocapsules as a strategy to improve pharmacological efficacy of curcumin in glioma treatment[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 83(2): 156-167.

【收稿日期】 2015-06-08 【修回日期】 2015-10-08

【本文编辑】 李睿旻

(上接第 504 页)

western diamondback rattlesnake venom [J]. *Biol Chem*, 1997,272(14):9539-9542.
[9] Guo CM, Liu SQ, Yao YW. Past decade study of snake venom L-amino acid oxidase[J]. *Toxicon*, 2012, 60(3): 302-311.
[10] Samel M, Vija H, Rönnholm G, *et al.* Isolation and characterization of an apoptotic and platelet aggregation inhibiting L-amino acid oxidase from *Vipera berus berus* (common viper) venom[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1764(4):707-714.
[11] Kanzawa N, Shintani S, Ohta K, *et al.* Achacin induces cell death in HeLa cells through two different mechanisms [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2004, 422(1): 103-109.
[12] Alves RM, Antonucci GA, Paiva HH, *et al.* Evidence of caspase mediated apoptosis induced by L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops atrox* snake venom[J]. *Comp Biochem Physiol A*, 2008,151(4):542-550.
[13] de Melo Alves Paiva R, de Freitas Figueiredo R, Antonucci GA, *et al.* Cell cycle arrest evidence, parasiticidal and bactericidal properties induced by L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom[J]. *Bchimie*, 2011, 93(5): 941-947.
[14] Zhang L, Wu WT. Isolation and characterization of ACTX-6; a cytotoxic L-amino acid oxidase from *Agkistrodonacutus* snake venom[J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(6): 554-563.
[15] Chen X, Lv P, Liu J, *et al.* Apoptosis of human hepatocellular carcinoma cell (HepG2) induced by cardiotoxin III

through sphase arrest [J]. *Toxicol Pathol*, 2009,61(4): 307-315.
[16] Zhang L, Cui L. A cytotoxin isolated from *Agkistrodonacutus* snake venom induces apoptosis via Fas pathway in A549 cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2007,21(6): 1095-1103.
[17] Golubkov V, Hawes D, Markland FS. Anti-angiogenic activity of eontortrostatin, a disintegrin from *Agkistrodon contortrix* snake venom[J]. *Angiogenesis*, 2003,6(3):213-224.
[18] Yeh CH, Peng HC, Yang RS, *et al.* Rhodostomin, a snake venom disintegrin, inhibits angiogenesis elicited by basic fibroblast growth factor and suppresses tumor growth by a selective alpha(v)beta(3) blockade of endothelial cells[J]. *Mol Pharmacol*, 2001,59(5):1333-1342.
[19] Zhang L, Cui L. A cytotoxin isolated from *Agkistrodonacutus* snake venom induces apoptosis via Fas pathway in A549 cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2007,21(6): 1095-1103.
[20] El-Refaei MF, Sarkar NH. Snake venom inhibits the growth of mouse mammary tumor cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Toxicon*, 2009,54(1): 33-41.
[21] de Melo Alves Paiva R, de Freitas Figueiredo R, Antonucci GA, *et al.* Cell cycle arrest evidence, parasiticidal and bactericidal properties induced by L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom[J]. *Bchimie*, 2011, 93(5): 941-947.
[22] Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target [J]. *Nature*, 2005,438(7070): 967-974.

【收稿日期】 2013-09-01 【修回日期】 2014-03-31

【本文编辑】 李睿旻