

透明质酸修饰的地塞米松核壳纳米粒的制备及表征

王 静^{1,2}, 甘 莉², 甘 勇², 刘建平^{1*}(¹中国药科大学药剂学教研室, 南京 210009; ²中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘 要 探讨透明质酸修饰的地塞米松核壳纳米粒的制备方法, 并对其理化性质及释药行为等进行考察。首先采用薄膜分散水化-挤膜法制备核壳纳米粒 (LCS-NPs), 单因素研究多种处方组成对 LCS-NPs 性质的影响。随后用透明质酸 (HA) 与二油酰磷脂酰乙醇胺 (DOPE) 的键合物 (HA-DOPE) 修饰 LCS-NPs, 制得 HA-LCS-NPs。采用粒度仪和投射电镜分别考察 HA-LCS-NPs 的粒径、电位、微观形态和结构组成。以地塞米松为模型药物, 考察载药 HA-LCS-NPs 的包封率和体外释药行为。HA-LCS-NPs 在透射电镜下呈现清晰的核壳结构, 平均粒径为 $(189 \pm 10.3) \text{ nm}$ 。HA-LCS-NPs 对地塞米松的包封率和载药量分别为 27.4% 和 5.9%, 72 h 累积释放率低于 40%。结果表明, 薄膜分散水化-挤膜法制备的 LCS-NPs 经 HA-DOPE 修饰, 可得到具有明显核壳结构的纳米载体, 并实现有效的药物包裹和良好的缓释特征。

关键词 透明质酸; 核壳纳米粒; 地塞米松; 缓释; 制备; 表征

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2013)02-0117-07

Preparation and characterization of hyaluronic acid-modified dexamethasone core-shell liponanoparticles

WANG Jing^{1,2}, GAN Li², GAN Yong², LIU Jianping^{1*}¹Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;²Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

Abstract The aim of this study was to prepare hyaluronic acid-modified dexamethasone-loaded core-shell liponanoparticles and to investigate their physicochemical properties as well as *in vitro* drug release behavior. Chitosan nanoparticles (CS-NPs) were prepared by ionic gelation, and then the freshly prepared CS-NPs suspension was used to hydrate the dry lipid film to form core-shell liponanoparticles (LCS-NPs). Hyaluronic acid (HA) was conjugated with 1, 2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphor-ethanolamine (DOPE) to form HA-DOPE, which was then incubated with LCS-NPs to get HA-modified LCS-NPs (HA-LCS-NPs). The particle size, Zeta potential, morphology, and composition of HA-LCS-NPs were evaluated. *In vitro* drug release of HA-LCS-NPs was investigated using dexamethasone as the model drug. Encapsulation efficiency and drug loading capacity of dexamethasone-loaded HA-LCS-NPs were detected via ultracentrifugation. HA-LCS-NPs exhibited clear core-shell structure as can be seen in the TEM images, average size distribution of which was $(189 \pm 10.3) \text{ nm}$. The encapsulation efficiency and drug loading capacity of dexamethasone-loaded HA-LCS-NPs were 27.4% and 5.9%, respectively. The cumulative release of dexamethasone from HA-LCS-NPs was less than 40% at 72 h. The core-shell liponanoparticles could be successfully prepared by hydrating dry lipid film with suspension of chitosan nanoparticles, followed by modification with HA-DOPE. Dexamethasone could be successfully encapsulated in the HA-LCS-NPs and exhibited sustained release behavior.

Key words hyaluronic acid; core-shell liponanoparticles; dexamethasone; sustained release; preparation; characterization

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81102387) and the Natural Science Foundation of Shanghai (No. 11ZR1444700)

后葡萄膜炎是一种可导致失明的眼底疾病,糖皮质激素类药物地塞米松常作为葡萄膜炎治疗的首选药物,但长期全身给药会产生严重的不良反应^[1]。临床上常用的给药方式是玻璃体注射,然而药物眼内滞留时间短,需要反复注射以维持有效治疗浓度。频繁的玻璃体注射常引发局部出血、视网膜脱落等严重并发症^[2]。此外,药物缺乏特异性的分布,易产生非预期的不良反应^[3]。因此,设计一种可以靶向炎症部位并缓慢释放药物的功能载体对后葡萄膜炎的治疗具有重要意义。

透明质酸(hyaluronic acid, HA)是由 *N*-乙酰氨基葡萄糖和 β -D-葡萄糖醛酸二糖单元交替联接而成的线状酸性黏多糖。CD44 分子作为透明质酸的主要受体之一,在肿瘤部位或炎症组织的细胞表面均会过度表达^[4]。HA 修饰的载体可以主动靶向 CD44 高表达的组织或细胞,成为近年来靶向性功能载体的研究热点之一^[5-6]。脂质体纳米粒复合物(liponanoparticles)是将纳米粒包裹在脂质体中而制备的一种核壳型多功能化药物载体^[7]。壳聚糖(CS)由于其良好的生物相容性,常用作眼部给药的载体材料。然而,单纯使用壳聚糖纳米粒存在药物突释、稳定性差等问题^[8-9]。将壳聚糖纳米粒作为核芯包裹在脂质双层膜中形成核壳纳米粒,能够改善壳聚糖纳米粒的药物缓释作用和体内稳定性。

本研究旨在设计一种透明质酸修饰的核壳纳米粒(HA-LCS-NPs),以 CS 作为纳米粒核芯,外层包裹脂质双层后,进一步采用 HA 进行修饰,以实现玻璃体内缓慢释药和炎症组织的主动靶向性。本研究对 HA-LCS-NPs 的制备方法、载体的形态、粒径、包封率及体外释药行为等进行考察,为后期设计地塞米松玻璃体注射给药系统奠定基础。

1 材料

1.1 试剂

透明质酸(HA, 相对分子质量 1 300 kD, 山东福瑞达生物医药有限公司);1,2-二油酰-*sn*-甘油-3-磷酸酯乙醇胺(DOPE, 上海艾韦特医药科技有限公司);壳聚糖(相对分子质量 200 kD, 脱乙酰度大于 90%, 浙江金壳生物化学有限公司);蛋黄卵磷脂(PC-98T, 日本丘比株式会社);异硫氰酸荧光素(FITC, 美国 Sigma 公司);其余试剂均为市售分

析纯。

1.2 仪器

BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司);Nano ZS 激光纳米粒度测定仪(英国 Malvern 公司);RV10 数显型旋转蒸发仪(广州 IKA 有限公司);聚碳酸酯膜(200 nm, 英国 Whatman 公司);CM200 透射电镜(荷兰 Philips 公司);FV1000 激光扫描共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 HA-DOPE 的合成^[10]

称取 HA 26 mg, 置蒸馏水(pH 预先调至 4.0) 10 mL 中, 水合过夜使之充分溶胀和溶解。加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)12 mg 和 *N*-羟基琥珀酰亚胺(NHSS) 6.8 mg, 以 1 mol/L 盐酸调节 pH 至 4.0, 37 °C 水浴下活化 2 h。将溶有 DOPE 的乙醇溶液(1 mg/mL) 360 μ L 加入到 HA 溶液中, 以 0.1 mol/L 硼酸盐缓冲液调节 pH 至 8.6, 37 °C 水浴反应过夜。反应结束时, 将反应液加到超滤管中(截留相对分子质量 50 kD)反复离心洗涤, 去除多余反应物和反应副产物。经薄层色谱(展开剂:氯仿-甲醇-水, 65:25:4, 碘蒸气显色)验证反应液中无游离 DOPE 存在时, 将反应液冷冻干燥, 即得 HA-DOPE, 化学结构经 ¹H NMR 验证, 4 °C 贮存备用。

2.2 壳聚糖纳米粒(CS-NPs)的制备

采用离子凝胶化法^[11]制备 CS 纳米粒。将 CS 溶于适量 1% 冰醋酸形成 2.0 mg/mL CS 溶液, 在室温磁搅拌条件下, 将 1.0 mg/mL 多聚磷酸钠(TPP)溶液逐滴加入到 CS 溶液中, 持续搅拌 30 min 使 CS 与 TPP 充分交联, 13 000 r/min 离心 30 min, 弃去上清液, 用去离子水复悬, 得 CS-NPs 混悬液。

2.2.1 CS 质量浓度对 CS-NPs 粒径和电位的影响

将 CS 溶液(1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/mL)分别与 1.0 mg/mL TPP 溶液反应, 固定两者的质量比为 5:1, 按“2.2”项下方法制备纳米粒, 分别测定粒径与电位。

2.2.2 CS 与 TPP 的质量比对 CS-NPs 粒径和电位的影响

使用 2.0 mg/mL CS 溶液, 1.0 mg/mL TPP 溶液, 采用两者质量比分别为 3:1, 4:1, 5:1 和 6:1, 各自制备纳米粒, 分别测定粒径与电位。

2.3 核壳纳米粒(LCS-NPs)的制备

将 PC-98T、胆固醇(Chol)和 DOPE 按质量比 15:4:1 溶于适量氯仿中,在 37 ℃ 水浴减压条件下旋转蒸发除去有机溶剂形成磷脂薄膜。室温条件下,用壳聚糖纳米粒混悬液水化脂质膜^[12]。将脂质体纳米粒复合物过 200 nm 孔径的碳酸酯膜,即得粒径在 200 nm 左右的核壳纳米粒,终浓度为 12 mg/mL。

2.3.1 磷脂与纳米粒的质量比对 LCS-NPs 电位的影响 由于磷脂层形成的亲水空间有限,当纳米粒数量过多时,可能不能被脂质膜完全包裹。选取磷脂与纳米粒的质量比分别为 1:1,3:1,5:1,7:1 和 9:1,制备核壳载体。根据水化后形成载体的电位改变,选择两者合适的质量比。

2.3.2 荧光双标记法考察 LCS-NPs 的组成 参考文献[13]方法,用绿色荧光物质 FITC 标记 CS。向 1.5 mg/mL CS 溶液中加入 1.0 mg/mL FITC 甲醇溶液,两者的体积比为 30:1。室温下避光反应 3 h,磁搅拌速度为 200 r/min。反应结束后,以 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 至 8.0,离心(8 000 r/min, 15 min)沉淀反应物,弃上清液,去离子水反复洗涤沉淀,即得 FITC-CS 荧光探针。

按“2.2”项下方法用 FITC-CS 制备 CS-NPs,待用。在制备脂质薄膜时,向磷脂的氯仿溶液中加入质量分数为 1% 蓝色荧光物质苝,减压条件下除去有机溶剂形成荧光标记脂质膜, FITC 标记的 CS-NPs 水化脂质膜制备荧光双标记的 LCS-NPs。取适量载体溶液滴加至载玻片上,于共聚焦激光扫描显微镜下观察载体的组成形式。

2.4 HA-LCS-NPs 的制备

取冻干的 HA-DOPE 化合物溶于适量纯净水中,形成 0.1 g/mL HA-DOPE 水溶液,分别以质量分数 5%,10%,20% 将 HA-DOPE 水溶液加至不同体积的 LCS-NPs 水混悬液中,60 ℃ 条件下搅拌 1 h,使 HA-DOPE 插入到磷脂双分子层中,形成 HA 修饰的核壳纳米粒。

2.5 HA-LCS-NPs 理化性质考察

取适量 CS-NPs, LCS-NPs 和 HA-LCS-NPs 载体混悬液,用去离子水稀释至合适倍数后,采用激光粒度分析仪测定各个样品的粒径以及 Zeta 电位。

采用透射电镜(TEM)观察 HA-LCS-NPs 的超微结构,将载体混悬液分别滴加至碳膜包被的铜网

上,再滴加 2% 磷钨酸对样品进行负染,待样品自然晾干后,用透射电镜观察并拍照。

2.6 载药 HA-LCS-NPs 的制备及检测

将地塞米松的丙酮溶液 2 mL 加至壳聚糖溶液(2.0 mg/mL)10 mL 中,按“2.2”项下方法制备地塞米松-壳聚糖纳米粒。参照“2.3”和“2.4”项下方法,分别制备载药 LCS-NPs 和载药 HA-LCS-NPs。

2.6.1 包封率和载药量的测定 采用超速离心法考察包封率和载药量,将含药 HA-LCS-NPs 2 mL, 16 000 r/min 离心 30 min 后,取离心上清液适量,用甲醇稀释定容, HPLC 法检测上清液中游离药物浓度。HPLC 色谱柱: XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(28:72); 检测波长: 240 nm; 流速: 1 mL/min; 进样体积: 20 μL; 柱温: 室温。包封率和载药量的计算公式分别为: 包封率(%) = (总药量 - 游离药量)/总药量 × 100; 载药量(%) = (总药量 - 游离药量)/纳米粒质量 × 100; 纳米粒质量为冻干后质量。

2.6.1.1 有机溶剂的种类对包封率和载药量的影响 分别用甲醇、乙醇和丙酮溶解适量地塞米松,质量浓度为 1 mg/mL,保持药物溶液与 CS 溶液的体积比为 1:5,按“2.2”项下方法制备载药 CS-NPs,分别测定包封率和载药量。

2.6.1.2 药物/CS 质量比对包封率和载药量的影响 经预实验确定,加至 CS 溶液中的有机溶剂质量不宜超过总体积的 20%。将地塞米松溶解在丙酮中,分别得到质量浓度为 1, 2, 2.5, 4 mg/mL 的溶液,保持地塞米松溶液与 CS 溶液的体积比为 1:5,按“2.3”项下方法制备载药 CS-NPs。分别测定包封率和载药量,考察地塞米松与 CS 的质量比分别为 1:10, 1:5, 1:4 和 2:5 时,包封率和载药量的变化趋势,进而选择合适的浓度作为处方条件。

2.6.2 体外释放性能考察 采用透析袋法考察 3 组含药载体的体外释药特点。分别取含药 CS-NPs, LCS-NPs, 和 HA-LCS-NPs 2 mL 置于透析袋中,两端系紧,投入装有 PBS 50 mL 的锥形瓶中。在恒温振荡培养箱(37 ℃, 100 r/min)中振荡,于预先设定好的各时间点 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 h 取透析液 1 mL 用于检测,之后再补充等量等温的新鲜 PBS。通过标准曲线计算药物累积释放量,根据药物累积释放率对释药时间的曲线

图,分析药物体外释放行为。

3 结 果

3.1 HA-DOPE 的结构验证

透明质酸结构单元上的羧基经 EDC 活化后易与 DOPE 的氨基反应,生成酰胺键。在核磁共振谱仪上测得的图谱如图 1 所示。 δ 在 3.2~3.9 之间的多重峰对应透明质酸分子中的糖环结构, δ 在 2.1 处出现的独立单峰是由透明质酸分子中 *N*-乙酰基端的-CH₃ 形成(图 1A)。在图 1B 中,除了透明质酸的标志峰外, δ 在 1.1 和 1.9 处出现新的单峰,分别对应 DOPE 分子中烷基链上的甲基和亚甲基。结合薄层色谱的结果,可知合成的产物为 HA-DOPE。

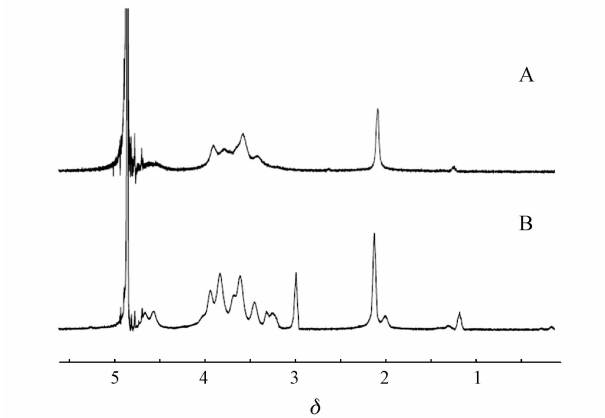


Figure 1 ¹H NMR of hyaluronic acid (HA) (A) and HA conjugated with 1, 2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphor-ethanolamine (HA-DOPE) (B) in D₂O

3.2 处方因素对 CS-NPs 及 LCS-NPs 理化性质的影响

3.2.1 CS 质量浓度对 CS-NPs 粒径与电位的影响
由表 1 可见,CS-NPs 的粒径与 Zeta 电位随着 CS 浓度的增加而显著提高。考虑后续使用 CS-NPs 水化脂质膜制备 LCS-NPs 时,CS-NPs 粒径过大不利于挤膜处理,CS-NPs 电位过低不利于脂质膜的吸附,因此选择 CS 的质量浓度为 2.0 mg/mL。

Table 1 Effect of the concentration of chitosan (CS) solution on the size and Zeta potential of chitosan-nanoparticles (CS-NPs) ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

<i>c</i> /(mg/mL)	Size/nm	Zeta potential/mV
1.0	123.4 ± 5.1	30.9 ± 4.7
1.5	136.6 ± 3.9	32.5 ± 4.6
2.0	156.2 ± 8.9	37.1 ± 3.6
2.5	188.4 ± 6.3	41.0 ± 4.4

3.2.2 CS 与 TPP 的质量比对 CS-NPs 粒径与电位的影响
表 2 结果显示,随着 CS 与 TPP 质量比

的增加,CS-NPs 的粒径呈现下降趋势,而 Zeta 电位随之升高。综合两因素,选择 CS 与 TPP 质量比为 5:1,用于制备 CS-NPs 及后续研究。

Table 2 Effect of the mass ratio of CS to sodium tripolyphosphate (TPP) on the size and Zeta potential of CS-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

<i>m</i> (CS)/ <i>m</i> (TPP)	Size/nm	Zeta potential/mV
3:1	229.8 ± 9.2	25.8 ± 6.4
4:1	235.1 ± 6.7	29.6 ± 7.3
5:1	190.2 ± 4.8	34.6 ± 5.0
6:1	177.4 ± 7.1	45.5 ± 3.4

3.2.3 磷脂与纳米粒的质量比对 LCS-NPs 电位的影响
LCS-NPs 表面 Zeta 电位的变化可以指示 CS-NPs 被磷脂膜包封的概率^[14]。由图 2 可以看出,当磷脂与 CS-NPs 的质量比增加至 5:1 时,LCS-NPs 的电位不再发生明显改变,说明多数 CS-NPs 表面被脂质膜包覆。为了避免脂质过量,本研究选择磷脂与 CS-NPs 的质量比为 5:1。

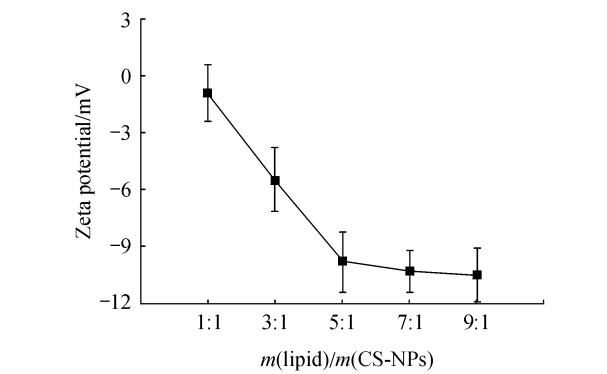


Figure 2 Effect of the mass ratio of lipid to CS-NPs on the size and Zeta potential of core-shell liponanoparticles (LCS-NPs) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.3 LCS-NPs 的结构验证

为了验证 LCS-NPs 核壳结构的存在,采用苝标记脂质膜, FITC 标记壳聚糖纳米粒,分别以 $\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 525 \text{ nm}$ 和 $\lambda_{\text{ex}} = 358 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 461 \text{ nm}$ 观察纳米粒和脂质膜的荧光。从图 3 可以看到纳米粒显示绿色荧光,脂质膜显示蓝色荧光,重叠两组荧光后,多数纳米粒与脂质外壳重叠,显示蓝绿色荧光。这一现象证实了脂质膜外壳的确包裹在 CS-NPs 表面,从而形成核壳型纳米粒。

3.4 HA-LCS-NPs 理化性质表征

3.4.1 粒径与电位
图 4 中是各组载体的粒径与电位的测量结果。通过离子交联法制备的 CS-NPs 粒径分布均匀,平均粒径为 $(158.4 \pm 7.7) \text{ nm}$,经过挤膜处理制得的 LCS-NPs 平均粒径在 $(185.6 \pm$

10.2) nm。LCS-NPs 与 HA-DOPE 共孵后,粒径随 HA-DOPE 含量增加而增大,多分散系数具有相同的改变趋势。单纯的 CS-NPs 带有正电荷,Zeta 电位为 (36.9 ± 3.2) mV。经脂质膜包裹后,CS-NPs 的正电荷被屏蔽,LCS-NPs 的 Zeta 电位为 $-(6.0 \pm 1.8)$ mV。由于透明质酸分子中存在大量带有负电荷的羧基,因此 HA-LCS-NPs 的 Zeta 电位为负值并随着 HA-DOPE 含量增加而下降。

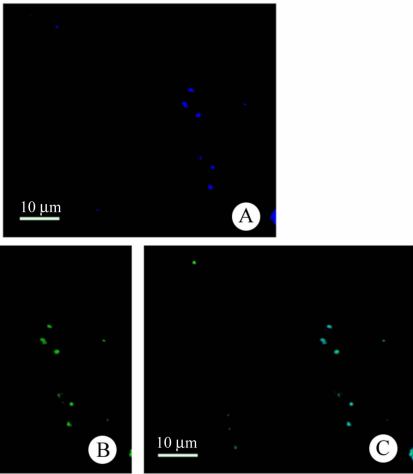


Figure 3 Confocal laser scanning microscope (CLSM) images of the LCS-NPs observed at two emission wavelengths: (A) at 488 nm to detect the FITC labeled CS-NPs, (B) at 358 nm to examine the pyrene labeled lipid membrane, and (C) co-localization of FITC labeled CS-NPs and pyrene labeled lipid membrane

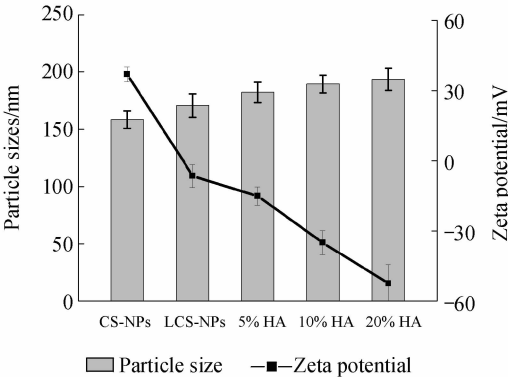


Figure 4 Particle sizes and Zeta potentials of CS-NPs, LCS-NPs and HA-LCS-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.4.2 HA-LCS-NPs 形态学考察 TEM 结果(图 5)可见,HA-LCS-NPs 呈明显的核壳结构,负染后壳聚糖纳米粒为黑色球形或类球形颗粒,而透明质酸修饰的脂质膜显示浅灰色。

3.4.3 包封率与载药量 将地塞米松配成质量浓度为 0.1,0.25,0.5,1.0,2.5,5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液,按“2.6.1”项下所述色谱条件进样,以峰

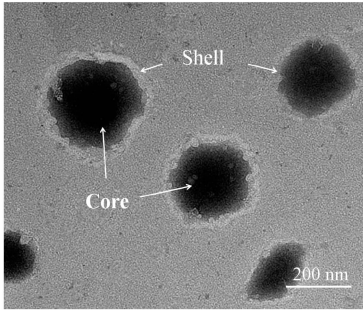


Figure 5 TEM images of HA-LCS-NPs

面积(A)对药物质量浓度(c)进行线性回归, $A = 44.342c - 0.148, r = 0.9998$ 。在 0.1 ~ 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,线性关系良好。经超速离心法检测 HA-LCS-NPs 对地塞米松的包封率和载药量分别为 27.4% 和 5.9%。由于地塞米松为水难溶性药物,限制了其被亲水性壳聚糖纳米粒的包载,因此,以地塞米松-壳聚糖纳米粒制备的载药 HA-LCS-NPs 包封率略低。

3.4.3.1 有机溶剂种类对包封率和载药量的影响

将药物包封率和载药量的测定结果,药物的乙醇溶液加至 CS 溶液中后,药物明显析出。使用丙酮作为药物溶剂时,载药量和包封率均高于甲醇溶剂(表 3)。故选择丙酮作为药物溶剂。

Table 3 Effect of organic solvent type on the encapsulation efficiency (EE) and loading capacity ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Organic solvent	EE/%	Loading capacity/%
Methanol	29.4 ± 1.5	3.1 ± 0.7
Ethanol	—	—
Acetone	35.8 ± 1.8	4.3 ± 0.4

3.4.3.2 药物与 CS 质量比对包封率和载药量的影响 由表 4 可见,药物与 CS 质量比提高时,包封率明显下降,载药量略有提高。综合考虑,选择药物与 CS 质量比为 1:4,作为含药载体的制备条件。

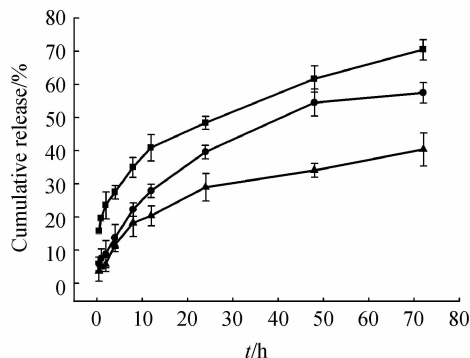
Table 4 Effect of the mass ratio of dexamethasone/CS on the EE and loading capacity

$m(\text{dexamethasone})/m(\text{CS})$	EE/%	Loading capacity/%
1:10	34.5 ± 2.1	4.1 ± 0.6
1:5	28.2 ± 1.7	4.8 ± 0.5
1:4	27.4 ± 1.4	5.9 ± 0.7
2:5	18.9 ± 3.0	6.4 ± 0.7

3.5 HA-LCS-NPs 的体外释药行为

由药物累积释放率-时间曲线(图 6)可以看出:①载药 CS-NPs 组,地塞米松在前 12 h 的释放

率达到 40.9%, 具有明显的突释效应; ②在载药 LCS-NPs 组和载药 HA-LCS-NPs 组, 地塞米松前 12 h 的释放率分别为 28.0% 和 20.6%, 具有较好的缓释效应; ③HA-LCS-NPs 组在本实验所考察的时间范围内, 累积释放率低于 40%, 显示良好的缓释特征。



—■—CS-NPs; —●—LCS-NPs; —▲—HA-LCS-NPs

Figure 6 *In vitro* cumulative release curves of dexamethasone-loaded nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

HA 与 DOPE 反应的原理是 HA 分子中的羧基经 EDC 活化后与 DOPE 分子中的氨基在碱性条件下发生缩合反应形成酰胺键^[15]。本研究采用 HA-DOPE 的水溶液与 LCS-NPs 共同孵育的方法, 将透明质酸修饰至脂质膜表面。这种透明质酸分子后修饰的方法避免了有机溶剂和机械压力的使用, 从而降低这些因素对核壳结构或脂质膜的破坏。此外, 可以通过调节 HA-DOPE 的加入量而精确控制透明质酸的修饰度^[16-17]。

影响核壳纳米粒形成的因素主要包括以下几点: ①壳聚糖纳米粒核芯的粒径与电位; ②磷脂的组成即脂质膜的荷电性质; ③脂质膜与纳米粒的质量比等。通常经离子凝胶化法制备的壳聚糖纳米粒粒径较小且分散均匀, 易通过调节处方因素加以控制^[18]。由于壳聚糖纳米粒表面带有正电荷, 因此负电性的磷脂更易于通过静电作用吸附于纳米粒表面^[19]。粒径与电位测定结果显示, CS-NPs 水化脂质膜后形成的 LCS-NPs 显示负电性, 表明脂质膜是全部或部分吸附于 CS-NPs 的表面, 而导致粒子表面 Zeta 电位变化。本研究采用荧光双标记法进一步验证了 LCS-NPs 的组成, 脂质膜包覆在纳米粒表面形成核壳纳米粒。透射电镜照片显示,

HA-LCS-NPs 呈现典型的核壳结构, 由透明质酸修饰的脂质外壳和壳聚糖纳米粒核芯构成。

本研究以葡萄膜炎常用治疗药物地塞米松为模型药物, 进一步考察了透明质酸修饰的核壳纳米粒的载药性能和体外释药行为。经过脂质膜包裹和透明质酸修饰后, 纳米粒的突释效应明显降低, 并呈现了良好的缓释特征。

参考文献

- [1] Kim J, Chauhan A. Dexamethasone transport and ocular delivery from poly (hydroxyethyl methacrylate) gels [J]. *Int J Pharm*, 2008, **353**(1/2): 205–222.
- [2] Bochot A, Fattal E. Liposomes for intravitreal drug delivery: a state of the art [J]. *J Control Release*, 2012, **161**(2): 628–634.
- [3] Kwak HW, D'Amico DJ. Evaluation of the retinal toxicity and pharmacokinetics of dexamethasone after intravitreal injection [J]. *Arch Ophthalmol*, 1992, **110**(2): 259–266.
- [4] Gee K, Kryworuchko M, Kumar A. Recent advances in the regulation of CD44 expression and its role in inflammation and autoimmune diseases [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2004, **52**(1): 13–26.
- [5] Platt VM, Szoka FCJ. Anticancer therapeutics: targeting macromolecules and nanocarriers to hyaluronan or CD44, a hyaluronan receptor [J]. *Mol Pharm*, 2008, **5**(4): 474–486.
- [6] Zhang L, Zhou JP, Yao J. Preparation and properties of paclitaxel-loaded glycyrhenthic acid-modified hyaluronic acid nanoparticles [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2012, **43**(3): 226–230.
- [7] Troutier AL, Ladaviere C. An overview of lipid membrane supported by colloidal particles [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2007, **133**(1): 1–21.
- [8] Wadhwa S, Paliwal R, Paliwal SR, et al. Chitosan and its role in ocular therapeutics [J]. *Mini-Rev Med Chem*, 2009, **9**(14): 1 639–1 647.
- [9] Hamman JH. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems [J]. *Mar Drugs*, 2010, **8**(4): 1 305–1 322.
- [10] Taetz S, Bochot A, Surace C, et al. Hyaluronic acid-modified DOTAP/DOPE liposomes for the targeted delivery of anti-telomerase siRNA to CD44-expressing lung cancer cells [J]. *Oligonucleotides*, 2009, **19**(2): 103–116.
- [11] Calvo P, Remunan-Lopez C, Vila-Jato JL, et al. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers [J]. *J Appl Polym Sci*, 1997, **63**(1): 125–132.
- [12] Grenha A, Seijo B, Serra C, et al. Surface characterization of lipid/chitosan nanoparticles assemblies, using X-ray photoelectron spectroscopy and time-of-flight secondary ion mass spectrometry [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2008, **8**(1): 358–365.

[13] Fan W, Yan W, Xu Z, *et al.* Erythrocytes load of low molecular weight chitosan nanoparticles as a potential vascular drug delivery system[J]. *Colloid Surface Biointerfaces*, 2012, **95**:258 – 265.

[14] Li J, Chen YC, Tseng YC, *et al.* Biodegradable calcium phosphate nanoparticle with lipid coating for systemic siRNA delivery[J]. *J Control Release*, 2010, **142**(3):416 – 421.

[15] Qhattal HS, Liu X. Characterization of CD44-mediated cancer cell uptake and intracellular distribution of hyaluronan-grafted liposomes[J]. *Mol Pharm*, 2011, **8**(4):1 233 – 1 246.

[16] Surace C, Arpicco S, Dufay-Wojcicki A, *et al.* Lipoplexes targeting the CD44 hyaluronic acid receptor for efficient transfection of breast cancer cells[J]. *Mol Pharm*, 2009, **6**(4):1 062 – 1 073.

[17] Dufay-Wojcicki A, Hillaireau H, Nascimento TL, *et al.* Hyaluronic acid-bearing lipoplexes: physico-chemical characterization and *in vitro* targeting of the CD44 receptor[J]. *J Control Release*, 2012, **162**(3):545 – 552.

[18] Hao YK, Yang XD. Research progress of drug-loaded chitosan nanoparticles[J]. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 2005, **40**(17):1 292 – 1 295.

[19] Grenha A, Remuñán-López C, Carvalho EL, *et al.* Microspheres containing lipid/chitosan nanoparticles complexes for pulmonary delivery of therapeutic proteins [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, **69**(1):83 – 93.

· 新 信 息 ·

2012 年最畅销的 20 个药物(2)

- 11 恩利 Enbrel(依那西普) 生产商:安进(Amgen)
适应证:中度至重度斑块型银屑病、银屑病关节炎以及中度至重度类风湿关节炎。
- 12 Neulasta(培非格司亭) 生产商:安进(Amgen)
适应证:癌症化疗引起的中性粒细胞减少。
- 13 乐瑞卡 Lyrica(普瑞巴林) 生产商:辉瑞(Pfizer)
适应证:纤维肌痛、糖尿病神经痛、脊髓损伤后神经痛、带状疱疹痛。
- 14 捷诺维 Januvia(西他列汀) 生产商:默沙东(Merck&Co.)
适应证:治疗 2 型糖尿病。
- 15 立普妥 Lipitor(阿托伐他汀钙) 生产商:辉瑞(Pfizer)
适应证:作为控制饮食的辅助治疗,降低血液中的低密度脂蛋白和甘油三脂;降低有一定风险因素的患者发生胸部疼痛、中风或者心血管问题的风险。
- 16 耐信 Nexium(埃索美拉唑) 生产商:阿斯利康(AstraZeneca)
适应证:4-8 周治疗糜烂性食管炎;糜烂性食管炎愈合后的维持治疗;4-8 周治疗胃食管反流病;有患 NASID 相关胃溃疡风险的人群,如 60 岁以上人群或有这种溃疡史。
- 17 顺尔宁 Singulair(孟鲁司特) 生产商:默沙东(Merck&Co.)
适应证:12 个月及以上慢性哮喘患者;6 岁及以上患者运动后诱发支气管收缩的急性预防;过敏性鼻炎;2 岁及以上患者季节性过敏性鼻炎;6 个月及以上患者常年性过敏性鼻炎。
- 18 Atripla(依非韦伦,恩曲他滨和替诺福韦) 生产商:吉利德(Gilead Sciences)
适应证:12 岁及以上 HIV-1 感染者。
- 19 信必可 Symbicort(布地奈德和福莫特罗) 生产商:阿斯利康(AstraZeneca)
适应证:长期哮喘控制药物无法治愈的、或者十分严重的、12 岁及以上哮喘患者;成年患者的慢性阻塞性肺病,包括慢性支气管炎和肺气肿。
- 20 Truvada(恩曲他滨和富马酸替诺福韦) 生产商:吉利德(Gilead Sciences)
适应证:12 岁及以上 HIV-1 感染者,与其他抗 HIV-1 药物联用。

(生物谷,本刊有删节)