

载白藜芦醇 PLGA 纳米粒的制备及其体内外评价

沈俊楠, 姚文栋^{*}(浙江中医药大学附属第一医院药剂科, 杭州 310018)

摘要: 目的 通过聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]纳米粒的负载, 改善白藜芦醇(resveratrol, RES)体内清除快、作用时间短的缺陷, 延长 RES 镇痛作用时间。方法 利用复乳溶剂蒸发法制备 PLGA 纳米粒, 载药后离心法除去游离药物; 透射电镜考察其形态; 激光粒度分析仪考察粒径、Zeta 电位和稳定性; HPLC 考察包封率和载药量; 透析袋法考察其体外释药特性; 热板法、醋酸扭体法及鼠尾测痛法考察其镇痛效果。结果 制备的 PLGA@RES 分布均一, 无团聚现象, 粒径为 $(210.90 \pm 1.76) \text{ nm}$, 多分散指数为 0.22 ± 0.02 , Zeta 电位为 $(-21.81 \pm 0.75) \text{ mV}$; 包封率与载药量分别为 $(89.62 \pm 2.52)\%$ 与 $(9.15 \pm 0.73)\%$; PLGA@RES 较 RES 体外突释降低, 缓释特性明显; 药理学试验结果表明 PLGA@RES 起效快的特性仍未改变, 镇痛作用时间明显延长。结论 PLGA@RES 解决了 RES 体内清除快、作用时间短的缺陷, 经过缓释后的 PLGA@RES 可发挥持久的镇痛效果, 是一种 RES 的潜在递药系统。

关键词: 白藜芦醇; PLGA 纳米粒; 缓释; 镇痛; 体内外评价

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)02-0167-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.02.007

引用本文: 沈俊楠, 姚文栋. 载白藜芦醇 PLGA 纳米粒的制备及其体内外评价[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(2): 167-172.

Preparation and *in Vitro/in Vivo* Evaluation of Resveratrol Loaded PLGA Nanoparticles

SHEN Junnan, YAO Wendong^{*}(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310018, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prolong the analgesic effect time of resveratrol(RES) through the loading of poly(lactic-co-glycolic acid)(PLGA) nanoparticles to improve the ability of removing the defects of quick clearance and short action time. **METHODS** PLGA@RES nanoparticles was synthesized by double emulsion solvent evaporation method, and free drug was removed by centrifugation after loading; the shape was investigated by transmission electron microscope; laser particle size analyzer were used to determine the particle size, Zeta potential and stability; the entrapment efficiency and drug loading were measured by HPLC; the drug release behavior was studied by dialysis method; pharmacodynamics was studied by the acetic acid-writhing test, the hot-plate test and the tail pain test. **RESULTS** The prepared PLGA@RES had uniform distribution and no agglomeration, the mean particle size was $(210.90 \pm 1.76) \text{ nm}$ and polymer dispersity index was 0.22 ± 0.02 , Zeta potential was $(-21.81 \pm 0.75) \text{ mV}$; the entrapment efficiency and drug loading were $(89.62 \pm 2.52)\%$ and $(9.15 \pm 0.73)\%$; compared with RES, burst release *in vitro* of PLGA@RES decreased and sustained release was more obviously; the results of pharmacodynamics experiment showed that the characteristics of fast PLGA@RES effect remained unchanged, and the analgesic effect time was significantly prolonged. **CONCLUSION** The PLGA@RES is a prospective drug delivery system for solving the shortcomings of rapid clearance and short action time of RES. After sustained release, PLGA@RES can exert a lasting analgesic effect.

KEYWORDS: resveratrol; PLGA nanoparticles; sustained release; analgesia; *in vitro* and *in vivo* evaluation

白藜芦醇(resveratrol, RES)作为一种天然二苯乙烯类化合物, 对周围神经及中枢神经都有镇痛作用^[1-3]。RES 起效快、作用范围广, 极具开发价值。但是 RES 水溶性差、口服吸收少、体内清除速率高、作用时间短等缺陷限制了它在镇痛方面的应用^[4-5]。

聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]是聚乳酸-聚丙交酯[poly(lactic acid), PLA]和聚(乙醇酸)/聚乙交酯[poly(glutamic acid),

PGA]合成的可生物降解的聚合物。因其生物相容性高, 无体内毒性, 已被美国 FDA 批准作为药用辅料进入美国药典^[6], 近年来已大量应用于缓释药物载体^[7]。PLGA 由于其独特的性质, 已经成为目前广泛研究的合成可生物降解聚合物之一, 是一种在药物递送、组织工程中用到的重要聚合物材料^[7-8]。PLGA 合成的纳米粒可提高药物的生物利用度, 达到药物缓释作用^[7]。用 PLGA 纳米粒包载 RES 既可通过 RES 起效快的作用特点发挥疗效, 又可利用

基金项目: 浙江省药学会医院药学专项科研资助项目(“石药集团”专项)(2019ZYY23)

作者简介: 沈俊楠, 男, 药师 Tel: 18368020039 E-mail: sjz3736875@163.com *通信作者: 姚文栋, 男, 硕士, 药师 Tel: 15990140730 E-mail: yaowendong0730@dingtalk.com

PLGA 纳米粒的缓释作用改善 RES 作用时间方面的缺陷。

本实验制备 PLGA 纳米粒装载水溶性差、半衰期短的药物 RES(PLGA@RES)，利用 PLGA 纳米粒的缓释特性延长镇痛药物 RES 在体内的作用时间，并通过表征，考察其体外释放特性及体内镇痛作用，为纳米技术提高生物利用度，延长在体作用时间提供参考，为 RES 在镇痛方面的开发提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Nano-ZS 90 激光粒度分析仪(英国 Malvern 仪器有限公司); HT7700 透射电子显微镜(日本日立公司); Optima Max 超速低温离心机(美国 Beckman Coulter 有限公司); YLS-12A 鼠尾光照测痛仪(山东省医学科学院设备站); JY92-IIN 超声波粉碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

RES(北京百灵威科技有限公司，批号：259196；规格：500 mg)；PLGA(济南岱罡生物工程有限公司，批号：93671849；规格：10 g)；1,3-双硬脂酸甘油酯(玛雅试剂，批号：MAYA-CR-784)；二氯甲烷(麦克林试剂，批号：C10167809)；司盘-80(Aladdin，批号：38771)；冰醋酸(中国杭州化学试剂有限公司，批号：2017113)；聚乙烯醇(批号：1002287571)、十二烷基苯磺酸钠(批号：101322845)均购自 Sigma Aldrich；其余试剂均为分析纯。

清洁级 ICR 小鼠 78 只，♀♂各半，体质量(20±2)g，由浙江中医药大学实验动物中心提供，动物生产许可证号：SCXK(沪)2014-0001。本实验所涉及的动物均按照浙江中医药大学动物饲养规则和使用指南进行。

2 方法与结果

2.1 PLGA 纳米粒的制备

复乳溶剂蒸发法^[9]制备纳米粒：将 180 mg 的 PLGA 溶于 10 mL 二氯甲烷，加入 1,3-双硬脂酸甘油酯 60 mg 及 1 mL 司盘-80 溶解作为油相；取 1.0 mL 超纯水作为水相于离心管，加入 2.5 mL 油相后于超声波粉碎仪(180 W)下超声 10 min，形成初乳。初乳中加入乳化剂(聚乙烯醇 6 mL，十二烷基苯磺酸钠 2 mL)后，再次于超声波粉碎仪(180 W)下超声 10 min，得到复乳。取复乳至圆底烧瓶悬蒸 10 min 后，于 40 ℃水浴搅拌 4 h，挥干有机溶

剂。将成品于 10 000 r·min⁻¹ 高速离心 10 min，去上清，减压干燥得 PLGA 纳米粒。

2.2 PLGA@RES 纳米粒的制备

在“2.1”项下制备的油相中加入 RES 20 mg 后，后续步骤相同，得 PLGA@RES 纳米粒。

2.3 PLGA@RES 纳米粒的表征

2.3.1 粒径、电位及形态 采用 Nano-ZS 90 激光粒度分析仪测定 PLGA 及 PLGA@RES 纳米粒的粒径，多分散指数(polydispersity index, PDI)及 Zeta 电位，结果显示 PLGA 纳米粒的粒径为(204.23±1.41)nm，PDI=0.21±0.03，Zeta 电位为(-20.93±1.71)mV，载药后纳米粒的粒径和 PDI 有所增大，变为(210.90±1.76)nm 及 0.22±0.02，结果见表 1。

采用 HT7700 透射电子显微镜观察 PLGA 纳米粒的形态，结果见图 1。结果显示在透射电子显微镜下，PLGA 纳米粒形态规整，呈圆整球形或类球形，分散性良好，无团聚现象。

表 1 纳米粒的主要表征参数($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab. 1 Main characterization parameters of nanoparticles ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
PLGA	204.23±1.41	0.21±0.03	-20.93±1.71
PLGA@RES	210.90±1.76	0.22±0.02	-21.81±0.75

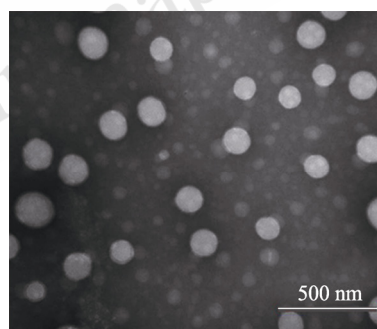


图 1 纳米粒透射电镜图

Fig. 1 Transmission electron microscope images of nanoparticles

2.3.2 包封率(entrapped efficiency, EE)和载药量(drug loading, DL) 精密称取 PLGA@RES 纳米粒至离心管中复溶，15 000 r·min⁻¹ 离心 45 min 后取上清液，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液用 HPLC 测定，计算上清液中游离的 RES 含量，记作 W_1 ；按以下公式分别计算 RES 的包封率和载药量。

$$EE/\% = (W_0 - W_1)/W_0 \times 100\%$$

$$DL/\% = (W_0 - W_1)/W_1 \times 100\%$$

其中, W_0 为 RES 总投药量; W_1 为 PLGA@RES 纳米粒中的游离药物量; W_t 为 PLGA@RES 纳米粒的总质量。

测得 PLGA@RES 纳米粒的包封率为 $(89.62 \pm 2.52)\%$, 载药量为 $(9.15 \pm 0.73)\%$ 。

2.3.3 稳定性 将制备好的 PLGA 纳米粒分散于超纯水及 PBS 中, 室温放置, 分别测定其 0, 1, 3, 5, 7 d 粒径的变化。PLGA 纳米粒在纯水中的粒径比在 PBS 中小约 20 nm 左右; 稳定性也比在 PBS 中更优良, 结果见图 2。

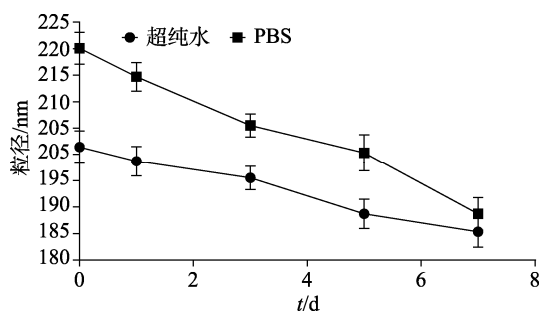


图 2 PLGA 纳米粒在纯水及 PBS 中的粒径变化($n=3$)
Fig. 2 Size changes in pure water and PBS of PLGA nanoparticle($n=3$)

取制备好的 PLGA 及 PLGA@RES 分散于 pH=7.4 的 PBS 中, 室温放置, 分别在 0, 1, 3, 5, 7 d 共 5 个时间点用 pH 计检测 PBS 的 pH 变化。组成纳米药物载体的 PLGA 会在 PBS 中发生降解, 通过酯键的水解形成丙交酯和乙交酯单体, 导致磷酸盐缓冲介质中的 pH 变化^[10]。由图 3 可知, PLGA 纳米粒在 PBS 中逐步分解使 pH 降低, 并在第 7 天 pH 降低至 7.33; 而 PLGA@RES 中 PLGA 在第 7 天 pH 已降低至 7.24, 降解更快。

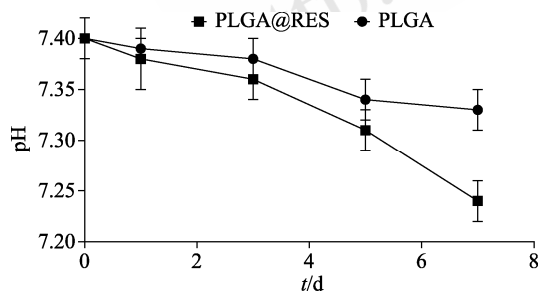


图 3 PLGA 及 PLGA@RES 在 PBS 中的 pH 变化($n=3$)
Fig. 3 pH changes of PLGA and PLGA@RES in PBS($n=3$)

2.3.4 体外释药特性 采用透析袋法测定 PLGA@RES 纳米粒的体外释药特性, 释放介质为 1% 聚山梨酯 80 的 PBS 溶液(pH 7.4), 37 °C, 避光。

精密称取 RES 和 PLGA@RES 适量(含 RES 2 mg), 分别置于透析袋中, 密封后分别放入装有 500 mL 释放介质的烧杯中, 然后置于 37 °C, 100 r·min⁻¹ 恒温水浴振荡器中, 平行操作 3 份。于 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时间点吸取 1.0 mL 的透析液, 并补充同温等量释放介质。样品用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 续滤液经 HPLC 测定 RES 浓度, 计算累积释放率, 结果见图 4。RES 释药迅速, 8 h 内的释药率达 98%, 已基本释放完全, 而 PLGA@RES 纳米粒在 24 h 释放 71.4%, 呈现明显的缓释特性。但 PLGA@RES 纳米粒在初始 0.5 h 累积释药率达到 23.6%, 在释药初期突释现象较为明显。

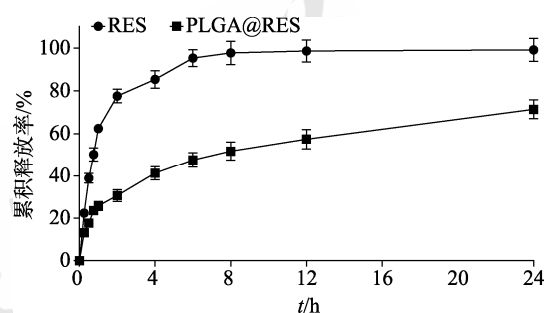


图 4 RES 及 PLGA@RES 体外释放曲线($n=3$)
Fig. 4 In vitro release curves of RES and PLGA@RES($n=3$)

2.4 药效学研究

2.4.1 醋酸扭体法镇痛试验 取 42 只小鼠随机分成生理盐水(normal saline, NS)组, RES-50 组, RES-100 组, RES-150 组, PLGA@RES-50 组, PLGA@RES-100 组和 PLGA@RES-150 组, 共 7 组。RES-50 组、RES-100 组、RES-150 组、PLGA@RES-50 组、PLGA@RES-100 组和 PLGA@RES-150 组分别均给予 50, 100, 150 mg·kg⁻¹ 的 RES 及 PLGA@RES, NS 组注射等量生理盐水。给药后 1 h 每只小鼠按 10 mL·kg⁻¹ 剂量腹腔注射 0.6% 醋酸, 观察并记录 30 min 内小鼠的扭体次数。

结果表明, RES 组和 PLGA@RES 组小鼠的扭体次数基本保持一致; 与 NS 组相比, 6 个给药组的小鼠扭体次数均显著减少($P<0.01$), 说明 RES 能显著降低小鼠对化学刺激的敏感性, 镇痛效果显著; 随着 RES 剂量的增加, RES 组和 PLGA@RES 组小鼠的扭体次数都呈现下降趋势, 说明 RES 的镇痛效果存在剂量依赖性。结果见图 5。

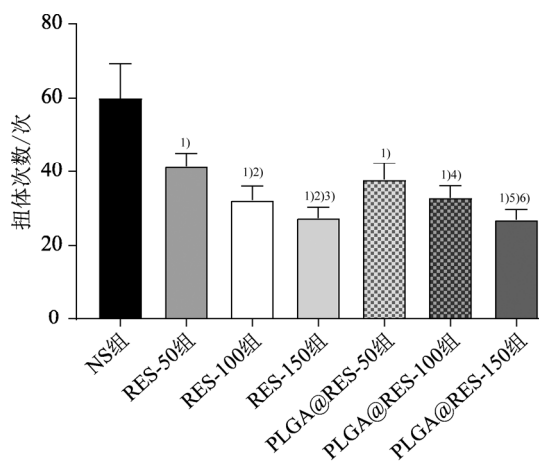


图5 各组醋酸扭体法镇痛试验结果($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
与 NS 组相比, ¹⁾ $P<0.01$; 与 RES-50 组相比, ²⁾ $P<0.01$; 与 RES-100 组相比, ³⁾ $P<0.05$; 与 PLGA@RES-50 组相比, ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$; 与 PLGA@RES-100 组相比, ⁶⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 5 Analgesia results of acetic acid-writhing test in each group($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with RES-50 group, ²⁾ $P<0.01$; compared with RES-100 group, ³⁾ $P<0.05$; compared with PLGA@RES-50 group, ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$; compared with PLGA@RES-100 group, ⁶⁾ $P<0.01$.

2.4.2 热板法镇痛试验 以小鼠舔足或跃起时间为痛阈指标, 温度(55 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。给药前先测定基础痛阈, 将基础痛阈不在 10~20 s 内的小鼠剔除, 设定 60 s 为持续加热的上限, 以防动物组织损伤^[11]。取 18 只符合要求的小鼠, 体质量(20 ± 2)g, 随机分成 3 组, 分别为 NS 组、RES 组、PLGA@RES 组。RES 组与 PLGA@RES 组分别按 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予 RES 及 PLGA@RES; NS 组注射等量生理盐水。测定小鼠给药后 30, 60, 90, 120, 180, 240, 480, 720 min 的痛阈值变化。

相比于 NS 组, 两给药组的痛阈都有所升高; 给药 120 min 后, RES 组痛阈开始下降, 而 PLGA@RES 组仍保持良好的镇痛作用, 甚至在 720 min 仍保持镇痛效果, 作用时间延长, 且镇痛效果明显。结果见图 6。

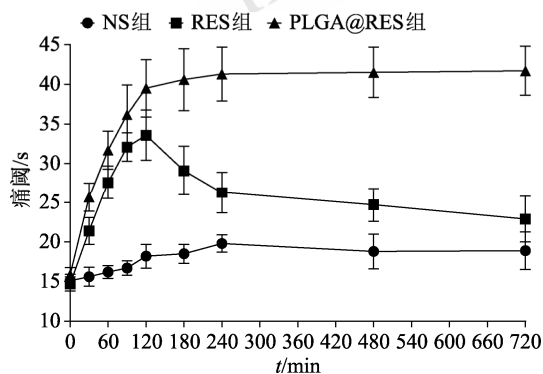


图6 各组热板法镇痛试验结果($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 6 Analgesia results of hot plate test in each group($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.4.3 鼠尾测痛法镇痛试验 将先测定基础痛阈在 10 s 内的 18 只小鼠随机分为 NS 组、RES 组、PLGA@RES 组。RES 组与 PLGA@RES 组分别按 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予 RES 及 PLGA@RES; NS 组注射等量生理盐水。测定小鼠给药后 30, 60, 90, 120, 180, 240, 480, 720 min 的痛阈值变化。

相比于 NS 组, 两给药组的痛阈均升高; 两给药组在给药初期, 镇痛效果相近; 与热板法略有不同, 给药 90 min 后, RES 组与 PLGA@RES 组相比, 痛阈已呈现下降趋势, 但与 120 min 镇痛效果相近, 而 PLGA@RES 组 90~120 min 仍保持良好的镇痛作用并延长至 720 min, 作用时间持久且镇痛效果明显。结果见图 7。

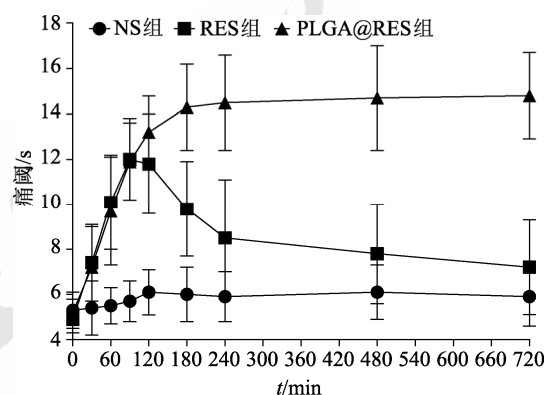


图7 各组鼠尾测痛法镇痛试验结果($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 7 Analgesia results of tail pain test in each group($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3 讨论

RES 是一种主要来源于葡萄皮和红酒的多酚类化合物, 自身具有抗炎镇痛、抗肿瘤、抗氧化等功效, 并且具有安全易得的优良特性^[12]。RES 可通过调节 Ca^{2+} 浓度, 激活 COX-2/PGE2, AMPK 信号通路等多种形式达到镇痛作用^[1-2]。RES 对癌痛也具有显著的抑制作用, 并且镇痛的同时没有临床常用的阿司匹林的胃肠道不良反应及阿片类药物的成瘾性^[13]。尽管 RES 极具开发价值, 但其作为一种小分子药物, 镇痛时间短(约为 90 min)^[14], 限制了 RES 的应用。因此, 本课题组采用纳米技术缓释药物, 使 RES 的在体循环时间更久, 从而延长 RES 镇痛作用时间。

相比于其他的载体系统, PLGA 具有可控的药物释放行为、稳定性以及较好的生物相容性、生物可降解性, 已经作为递药载体被广泛应用很多

年^[6-7]。并且纳米载体可以增加弱水溶性药物的溶解度,使 RES 在被 PLGA 纳米粒包载后,可以在水溶液中以纳米粒的形式存在^[15]。PLGA 纳米粒在纯水环境中相对较稳定,在 PBS 中粒径略大,且稳定性略低于在纯水中。这可能是由于 PBS 中离子在纳米粒表面形成了离子氛,使测得的粒径偏大,也正是由于离子的存在,使纳米粒的降解速度发生了变化,从而稳定性变差^[16]。负载 RES 后,PLGA 纳米粒降解速度变快,一方面可能是因为内部 RES 释放会加速 PLGA 的降解,另一方面可能是因为内部 RES 释放使纳米结构存在间隙,加大了与离子溶液的接触面积,从而加速了纳米粒的降解。

RES 为脂溶性小分子,为考察 PLGA@RES 体外释药特性,采用较常用的动态透析袋法,向 pH 为 7.4 的 PBS 中加入吐温-80 作为释放介质增强对 RES 的溶解,从而进行体外释放特性考察。从释药曲线可以发现,释药初期 PLGA@RES 有轻微突释现象,这可能是由于:①纳米粒表面黏附的药物经干燥再复溶过程而失去黏附性,释药相对迅速;②复溶过程中,RES 有泄露而使释药过快。当然,这个现象也有利于药物快速达到有效治疗浓度,发挥 RES 快速起效的优点,综合提高了 RES 镇痛作用。而在释放后期,PLGA 纳米粒内部的 RES 缓慢进入释放介质中,有利于维持有效治疗浓度。纳米粒内部的药物包埋得比较深,其可能随 PLGA 纳米粒的降解而释放。另一方面,纳米粒降解过程中,会产生孔隙及裂纹^[17],在不影响纳米粒粒径的情况下使内部的药物释放,因此在 1 d 内,有约 75% 的药物释放。但这两方面都与药物随纳米粒的降解有关,然后药物经过溶剂扩散到释放介质中,释药速率仅与药物包埋的深度或药物到纳米粒表面的距离有关,因此释药速率稳定^[18]。

本次镇痛试验从中枢镇痛和外周镇痛全面考察负载 RES 的 PLGA 纳米粒的镇痛作用。研究结果表明,相比于 RES 在 90~120 min 药效已明显下降,PLGA@RES 明显延长了作用时间。热板法中给药 120 min 后,RES 组与 PLGA@RES 组相比,痛阈开始下降,其原因为 RES 起效时间短,体内清除快,而 PLGA@RES 得益于纳米粒的缓释,镇痛作用时间延长。鼠尾测痛法中 RES 在 90 min 时

已呈现下降趋势,但总体趋势与热板法相似。综合镇痛试验,经纳米粒负载后的 RES 镇痛效果优于原药,且通过纳米粒的包载缓释特性明显,PLGA@RES 在 12 h 时仍能发挥良好的镇痛药效。

综上所述,PLGA 对于脂溶性小分子药物是一种优良的载体,PLGA 对 RES 有较高的载药量,纳米粒的包裹解决了 RES 药物体内清除快、镇痛作用时间短的缺陷。因此 PLGA 纳米粒有望成为 RES 的高效载体,为 RES 的开发应用提供参考。

REFERENCES

- [1] LIU W J, CHEN P Y, DENG J X, et al. Resveratrol and polydatin as modulators of Ca^{2+} mobilization in the cardiovascular system[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1403(1): 82-91.
- [2] AHMAD S F, ANSARI M A, NADEEM A, et al. Resveratrol improves neuroimmune dysregulation through the inhibition of neuronal toll-like receptors and COX-2 signaling in BTBR T_{lpr3/J} mice[J]. *Neuromolecular Med*, 2018, 20(1): 133-146.
- [3] ZHU J H, FAN H Q. Resveratrol ameliorates the inhibitory effect of A β on the proliferation of C17.2 cells by up-regulating the expression of Hsp75 protein[J]. *Pharm Today(今日药学)*, 2017, 27(7): 475-478, 482.
- [4] HOLIAN O, WAHID S, ATTEN M J, et al. Inhibition of gastric cancer cell proliferation by resveratrol: Role of nitric oxide[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282(5): 809-816.
- [5] PUSHPARAJ P N, MIRZA Z, KARIM S, et al. Molecular docking of resveratrol with known protein structures as well as high-throughput meta-data analyses uncork the "French Paradox" and its potential "Druggable" targets in humans[J]. *BMC Genom*, 2014, 15(2). Doi: 10.1186/1471-2164-15-S2-P27.
- [6] KURIAKOSE A E, PANDEY N, SHAN D Y, et al. Characterization of photoluminescent polylactone-based nanoparticles for their applications in cardiovascular diseases[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7(353). Doi: 10.3389/fbioe.2019.00353.
- [7] BAHADORI F, ESKANDARI Z, EBRAHIMI N, et al. Development and optimization of a novel PLGA-Levan based drug delivery system for curcumin, using a quality-by-design approach[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019(138): 105037. Doi: 10.1016/j.ejps.2019.105037.
- [8] DING D W, ZHU Q D. Recent advances of PLGA micro/nanoparticles for the delivery of biomacromolecular therapeutics[J]. *Mater Sci Eng C*, 2018(92): 1041-1060.
- [9] CRISTINA G C, LIEPPMAN B, ALICIA A R, et al. Photoreceptor preservation induced by intravitreal controlled

- delivery of GDNF and GDNF/melatonin in rhodopsin knockout mice[J]. *Mol Vis*, 2018, 24(35): 733-745.
- [10] CHEW S A, ARRIAGA M A, HINOJOSA V A. Effects of surface area to volume ratio of PLGA scaffolds with different architectures on scaffold degradation characteristics and drug release kinetics[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2016, 104(18): 1202-1211.
- [11] OKOKON J E, ANTIA B S, UMOH E. Analgesic and anti-inflammatory effects of ethanolic root extract of *Hippocratea Africana*[J]. *Int J Pharmacol*, 2008, 4(1): 51-55.
- [12] HUANG X T, LI X, XIE M L, et al. Resveratrol: Review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics[J]. *Chem Biol Interactions*, 2019(306): 29-38.
- [13] HAN Y, JIANG C, TANG J, et al. Resveratrol reduces morphine tolerance by inhibiting microglial activation via AMPK signalling[J]. *Eur J Pain*, 2014, 18(10): 1458-1470.
- [14] YE Y, FANG F, LI Y. Dimerization of resveratrol induced by red light and its synergistic analgesic effects with cobra neurotoxin[J]. *Photochem Photobiol*, 2014. Doi:10.1111/php.12262.
- [15] DOU T Y, WANG J, HAN C K, et al. Cellular uptake and transport characteristics of chitosan modified nanoparticles in Caco-2 cell monolayers[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 138(21): 791-799.
- [16] BOSSA F, ANNESE V, VALVANO M R, et al. Erythrocytes-mediated delivery of dexamethasone 21-phosphate in steroid-dependent ulcerative colitis: a randomized, double-blind sham-controlled study[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013, 19(9): 1872-1879.
- [17] FONTE P, SOARES S, COSTA A, et al. Effect of cryoprotectants on the porosity and stability of insulin-loaded PLGA nanoparticles after freeze-drying[J]. *Biomater*, 2012, 2(4): 329-339.
- [18] SWIDER E, MAHARJAN S, HOUKES K, et al. Förster resonance energy transfer-based stability assessment of PLGA nanoparticles *in vitro* and *in vivo*[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2019, 2(3): 1131-1140.

收稿日期: 2019-12-28
(本文责编: 蔡珊珊)