

PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的表征及其鼻纤毛毒性研究

陆瑾^{1,2}, 展冠军², 郭立玮³ (1.南京市大厂医院, 南京 210048; 2.东南大学附属中大医院, 南京 210009; 3.南京中医药大学, 南京 210023)

摘要: 目的 将 α -细辛脑制备成聚乙二醇-聚乳酸- α -细辛脑纳米粒(PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒), 考察其表面性能及鼻腔给药后的鼻纤毛毒性。方法 采用有机溶剂挥发法将 α -细辛脑制备成 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒。纳米粒度定位仪、透射电镜、差示扫描量热仪及 X 射线衍射法对 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒进行表征; 透析法研究 PEG-PLA- α -细辛脑体外释放行为; 大鼠模型考察 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒鼻腔给药后的鼻纤毛毒性。结果 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒平均粒径为 172.3 nm, PDI 指数 0.256, 载药量 10.70%, 包封率 59.36%; α -细辛脑主要以分子分散的形式存在于 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒中; PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒中 α -细辛脑的体外释放行为符合 Ritger-peppas 拟合方程; PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒鼻腔给药后对鼻纤毛无明显的毒性。结论 有机溶剂挥发法制备的 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒可用于鼻腔给药。

关键词: PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒; 鼻腔给药; 表征; 鼻纤毛毒性

中图分类号: R944.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)18-2280-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.18.009

引用本文: 陆瑾, 展冠军, 郭立玮. PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的表征及其鼻纤毛毒性研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(18): 2280-2284.

Characterization of PEG-PLA- α -asarone Nanoparticles and Its Nasal Cilia Toxicity

LU Jin^{1,2}, ZHAN Guanjun², GUO Liwei³ (1.Nanjing Dachang Hospital, Nanjing 210048, China; 2.Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, China; 3.Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare α -asarone into polyethylene glycol-poly(lactic acid)- α -asarone nanoparticles (PEG-PLA- α -asarone nanoparticles), and investigate the surface properties of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles and the nasal cilia toxicity after nasal administration. **METHODS** α -Asarone was prepared into PEG-PLA- α -asarone nanoparticles by organic solvent evaporation method. PEG-PLA- α -asarone nanoparticles were characterized by nano-particle size locator, transmission electron microscope, differential scanning calorimeter and X-ray diffraction method. *In vitro* release behavior of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles was studied by dialysis method. The rat model was used to investigate the nasal cilia toxicity of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles after nasal administration. **RESULTS** The average particle size of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles was 172.3 nm, the PDI index was 0.256, the drug loading was 10.70%, and the entrapment efficiency was 59.36%. The characterization results showed that α -asarone was mainly in the form of molecular dispersion exist in PEG-PLA- α -asarone nanoparticles. *In vitro* release behavior of α -asarone in PEG-PLA- α -asarone nanoparticles was in accordance with the Ritger-peppas fitting equation. The result of nasal cilia toxicity study showed that PEG-PLA- α -asarone nanoparticles had no apparent toxicity to nasal cilia after nasal administration. **CONCLUSION** PEG-PLA- α -asarone nanoparticles prepared by volatilization of organic solvents method can be used for nasal administration.

KEYWORDS: PEG-PLA- α -asarone nanoparticles; intranasal; characterization; nasal cilia toxicity

聚乙二醇(PEG)是最常用的亲水性修饰分子, 已被 FDA 批准用于人体。由于其具有亲水性、柔性、抗凝血性、抗巨噬细胞吞噬性、抵抗免疫识别、不与蛋白质结合、良好的生物相容性等优点^[1], 可有效改善纳米系统的亲水性和降解性, 延长载体系统在体内的循环时间^[2-3], 避免被巨噬细胞吞噬^[4]。在先前的研究中已报道通过鼻腔给药的方式, α -细辛脑干粉吸入剂及聚乳酸(poly(lactic acid, PLA)- α -细辛脑纳米粒可达到药物鼻-脑直接转运的目的^[5-6]。但由于气流粉碎得到的 α -细辛脑干粉吸入剂的粒径不均一, 存在经鼻给药后药物部分

沉积在肺部的缺点^[5], 而 PLA- α -细辛脑纳米粒没有达到最佳鼻-脑直接转运的粒径要求^[6]。鉴于以上 2 种制剂的缺点及 PEG 的优势, 本研究以 PEG-PLA 为载体, 采用乳化溶剂挥发法, 将 α -细辛脑制备成 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒, 通过对 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的表征及鼻纤毛毒性的研究, 评价 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒鼻腔给药的可能性, 以期为后期研究 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒鼻腔给药后药物在体内的动力学研究奠定基础。

1 仪器与试剂

SM-1000D 超声波细胞破碎仪(南京舜玛仪器

作者简介: 陆瑾, 女, 博士, 主管药师 Tel: 13914789051 E-mail: subwoofer365@sina.com

设备有限公司); HJ-6A 六联数显控温磁力搅拌器(江苏金运市金城国胜实验仪器厂); Allegra 64R 高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司); I-6 冷冻干燥机(德国 Ehrisa 公司); Zetasizer Nano-ZS90 粒度分析仪(英国马尔文有限公司); 透射电镜(美国 FEI 公司); XRD-6000 智能 X 射线衍射仪(日本岛津公司); DSC204 差示扫描量热仪(德国 Bruker 公司); SHA-CA 水浴恒温振荡器(金坛市盛蓝仪器制造有限公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司); LibrorAEL-40SM 十万分之一电子天平(日本岛津); 微型移液器(德国 eppendor 公司); K850 离子溅射仪(英国 Emitech); Quanta200 扫描电镜(荷兰 FEI 公司); HITACHI E-1010 喷金仪(日本日立公司)。

甲醇、乙腈均为色谱纯, 由德国默克医药生物科技公司提供; PEG-PLA(比例为 2 000 : 8 000, 山东医疗器械研究所, 批号: 14060601); 聚乙烯醇 1788(上海阿拉丁试剂有限公司); 饿酸(广州竞赢化工科技有限公司); 水为超纯水; α -细辛脑原料药(湖北艺康源化工有限公司, 批号: 130104); α -细辛脑对照品(供含量测定用, 中国药品生物制品检定所, 批号: 100298-201203); 透析袋(2 000 Da, 德国 Sorua)。

SD 大鼠, 体质量为 200~250 g, ♂, SPF 级, 来自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 许可证号: SCXK(沪)2008-0016。大鼠饲养在 SPF 级的环境下, 环境温度为 18~26 °C, 相对湿度 40%~70%, 12 h 光照/黑暗交替, 实验前自由饮水饮食。实验经南京中医药大学实验动物伦理委员会审核通过, 符合实验动物伦理要求。

2 方法与结果

2.1 纳米粒的制备

PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒根据文献^[7]采用响应面法优化制得, 最终的工艺参数: 有机相(二氯甲烷 : 丙酮=9 : 1)中 PEG-PLA 质量浓度为 18.38 mg·mL⁻¹, α -细辛脑浓度为 4.27 mg·mL⁻¹, PVA 水溶液的浓度为 1%, 5 000 r·min⁻¹ 预离心 5 min 除去沉淀后, 离心液再以 21 000 r·min⁻¹ 离心 45 min 得纳米粒沉淀, 其他工艺过程同 PLA- α -细辛脑纳米粒的制备^[7]。PEG-PLA 空白纳米粒制备过程中不加入药物。 α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒的物理混合物制备方法: α -细辛脑原料药与 PEG-PLA 空白纳米粒(1 : 9)按等量递增法的原则混匀。

2.2 表征

2.2.1 粒径和多分散系数(PDI)的测定 粒径和 PDI 采用粒度分析仪进行测定, 取适量 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒冻干粉均匀分散于重蒸水中, 温度条件为 25 °C。结果显示平均粒径为 172.3 nm, PDI 为 0.256, 粒径分布图见图 1。

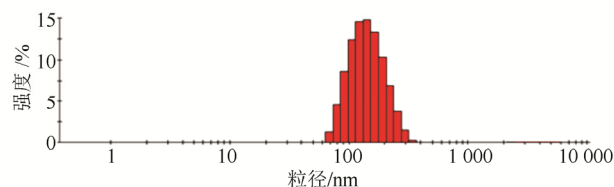


图 1 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒粒径分布图

Fig.1 Particle size distribution of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles

2.2.2 载药量(DL)与包封率(EE)的测定 DL 与 EE 使用 HPLC 检测^[5], 精密称取 10 mg PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒至 10 mL 量瓶中, 加乙腈 2 mL 超声 2 min 后加甲醇定容, DL 与 EE 的结果分别为 10.70%及 59.36%。

2.2.3 纳米粒的表面形貌 使用透射电镜观察纳米粒的表面形貌, 适量 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒粉末用 1.5%磷酸钨酸负染色后滴于镀膜的电镜铜网上, 晾干后, 观察纳米粒子的形态和粒径大小。结果显示, PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒外观圆整, 粒径为 50~200 nm, 结果见图 2。

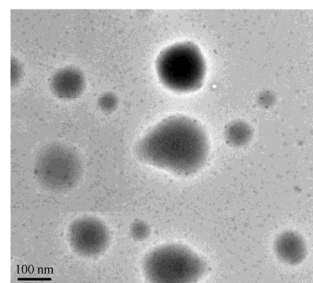


图 2 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒 TEM 图

Fig. 2 TEM images of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles

2.2.4 DSC 分析 使用差示扫描量热仪检测 DSC, 适量 PEG-PLA 空白纳米粒、 α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒物理混合物及 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒置于铝坩锅内, 以空白铝坩锅作参比物, 气氛为 N₂, 扫描范围 30~500 °C, 升温速度为 10.0 °C·min⁻¹。结果见图 3。

根据先前研究^[8], α -细辛脑原料药在 66.68 °C 处有一尖锐的吸热峰, 205.75 °C 处存在吸热分解峰的特征, 结合图 3 得到如下信息, PEG-PLA 空白纳米粒的 DSC-TG 的特征: 在 75 °C 左右存在玻

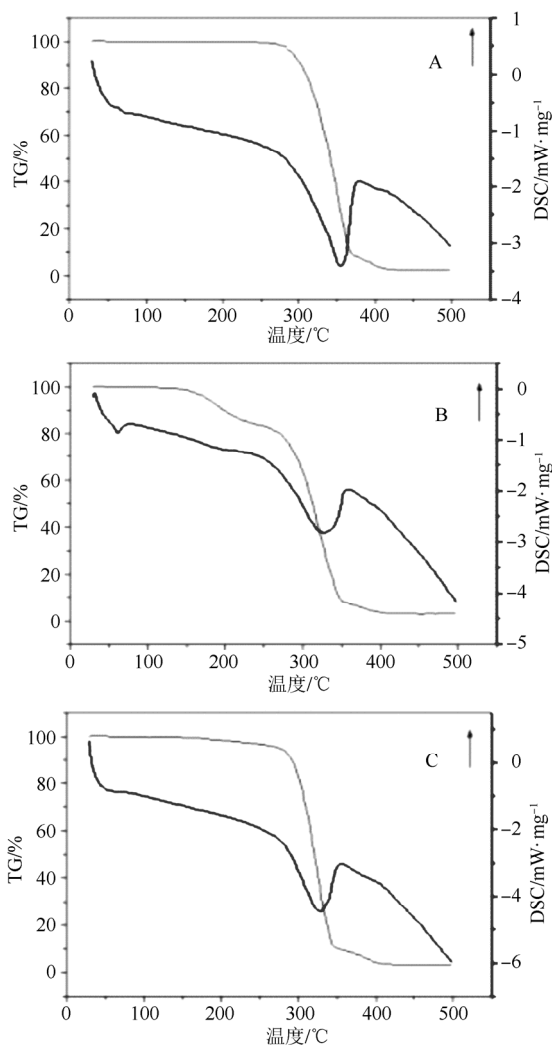


图3 DSC-TG 谱图

A-PEG-PLA 空白纳米粒; B- α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒物理混合物; C-PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒。

Fig. 3 DSC-TG spectrum

A-PEG-PLA- α -asarone-free nanoparticles; B-physical mixture of α -asarone and PEG-PLA- α -asarone-free nanoparticles; C-PEG-PLA- α -asarone nanoparticles.

玻璃化温度的吸热峰, 350 °C 附近存在一单吸热峰; α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒物理混合物 DSC-TG 的特征: 70 °C 附近有一吸热峰, 200 °C 左右有微弱的吸热分解峰, 推测应是 α -细辛脑原料药融化以及 PEG-PLA 玻璃转化的重合峰, 330 °C 附近为强度较空白纳米粒有所减弱的 PEG-PLA 特征峰; PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒 DSC-TG 曲线中仅有 PEG-PLA 的特征峰, 即 300~350 °C 之间的吸热峰, 而无 α -细辛脑原料药的吸收峰, 说明 α -细辛脑原料药在 PEG-PLA 载体中是以分子状态分散。

2.2.5 X 射线衍射分析 PEG-PLA 空白纳米粒、 α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒物理混合物及

PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的 XRD 射线衍射由 X 射线衍射仪进行检测, 检测条件: Cu-K α 靶(其中高压为 40 kV, 管流为 100 mA), 扫描范围 5~50 °; 扫描步长: 0.02 °; 扫描速度: 20 °·min⁻¹; 检测温度: 室温。X-射线衍射图谱见图 4。

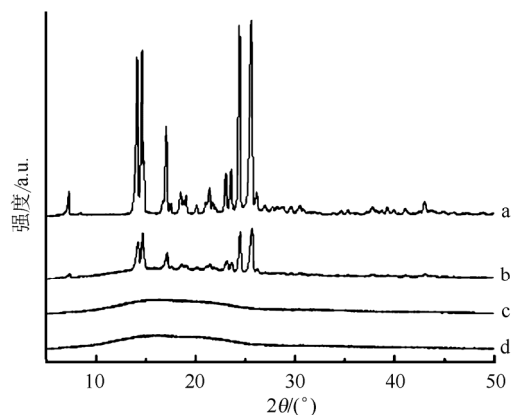


图4 XRD 谱图

a- α -细辛脑原料药; b- α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒物理混合物; c-PEG-PLA 空白纳米粒; d-PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒。

Fig. 4 XRD spectrum

a-native α -asarone; b-physical mixture of α -asarone and PEG-PLA- α -asarone-free nanoparticles; c-PEG-PLA- α -asarone-free nanoparticles; d-PEG-PLA- α -asarone nanoparticles.

根据文献[8], α -细辛脑特征结晶衍射峰的范围在 8~27 °。PEG-PLA 空白纳米粒为非晶型结构, 其在 10~25 °有一较宽的吸收峰。 α -细辛脑与 PEG-PLA 空白纳米粒的物理混合物在 8~27 °间仍可观察到一系列结晶衍射峰, PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的衍射曲线中 8~27 °间无结晶衍射峰, 说明 α -细辛脑以分子分散在 PEG-PLA 载体中。

2.2.6 Zeta 电位测定 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的 Zeta 电位使用 Zetasizer Nano-ZS90 粒度分析仪, 适量 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒分散于重蒸水中, 测试温度为 25 °C。

PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的 Zeta 电位为 -13.8 mV, 表明 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒带负电, 其电性与文献[8]中的 PLA- α -细辛脑纳米粒一样, 其中 PLA- α -细辛脑纳米粒 Zeta 电位的绝对值大于 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒 Zeta 电位的绝对值, 说明 PLA- α -细辛脑纳米粒比 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒在水溶液中更稳定。结果见图 5。

2.3 体外释放研究

体外释放研究采用透析法^[9-10], pH 5.5 和 7.4 分别模拟鼻腔给药和静脉给药的体内酸碱环境, 条件与理由同文献[8], 采用 HPLC 进行含量测定^[5], 并计算累积释放度。

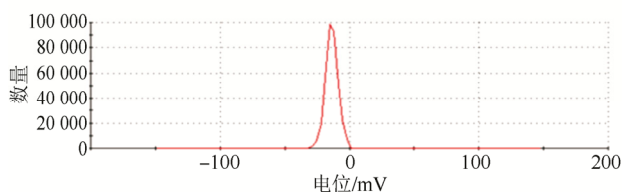


图5 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒 Zeta 电位图
Fig. 5 Zeta potential diagram of PEG-PLA- α -asarone nanoparticles

体外释放曲线见图6, 结果显示, pH 值为5.5和7.4的溶出介质中, 前50 h PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒中细辛脑的溶出均比原料药中细辛脑的溶出更快, 原因可能为部分药物分布在纳米粒的表面以及纳米粒中残留表面活性剂 PVA 对药物的促溶作用; 50 h 以后, PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒中细辛脑的溶出比原料药中细辛脑的溶出慢, 体现了纳米粒的缓释作用, 纳米粒中药物最终的释放度>90%。PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒在 pH 5.5 及 pH 7.4 的溶出介质中均呈双相状态释放。其中, PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒在 pH 5.5 溶出介质中略快于 pH 7.4 溶出介质。按 Zero order、First order、Higuchi、Weibull、Ritger-peppas 及 Hixcon Crowell 方程对两者分别进行拟合, 结果表明, 不管是 pH 5.5 的溶出介质还是 pH 7.4 的溶出介质, PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒中 α -细辛脑纳米粒的体外释放最佳拟合方程为 Ritger-peppes 模型, 这与异穿心莲内酯固体脂质纳米粒的体外释放一致^[11]。文献报道^[12-13], 药物与载体的比例、药物与载体结合方式、药物的性质、分布状态以及纳米粒的大小等均会影响药物的释放性能。

2.4 鼻纤毛毒性研究

9 只 SD 大鼠随机分成生理盐水组(阴性)、1%去氧胆酸钠生理盐水组(阳性)及 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液组, 每组 3 只, 每只大鼠两边鼻孔每天给予 1 次 20 μ L 溶液(或混悬液, 以 α -细辛脑计, 浓度为 10 mg·mL⁻¹), 连续 7 d, 第 8 天处死, 取下含有鼻黏膜的鼻中隔, 用生理盐水洗净, 按文献[8]处理, 制备电镜标本, 使用扫描电镜观察鼻纤毛破坏程度。结果显示, 大鼠鼻腔给予生理盐水后 7 d, 其鼻纤毛仍浓密, 规律有序; 给予 1%去氧胆酸钠 7 d 后, 鼻纤毛稀疏, 鼻黏膜严重受损, 基底细胞裸露; 给予 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒的大鼠, 鼻纤毛仍较浓密, 脱落现象少见。表明 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液对鼻纤毛刺激性低, 无明显毒性, 可用于鼻腔给药。结果见图 7。

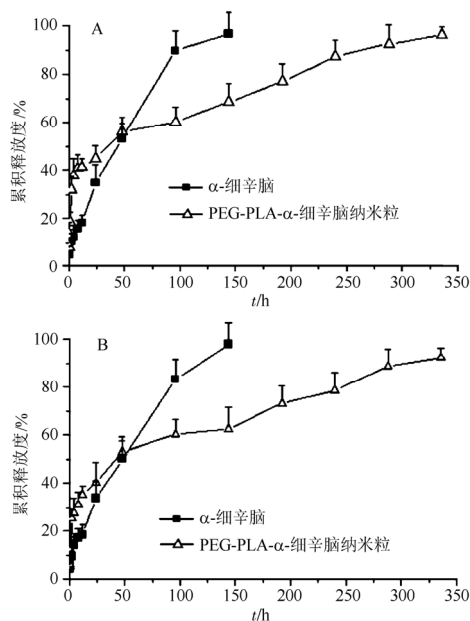


图6 α -细辛脑原料药及 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒中 α -细辛脑的体外释放曲线图($\bar{x} \pm s, n=3$)

A-溶出介质的 pH 值为 5.5; B-溶出介质的 pH 值为 7.4。

Fig. 6 *In vitro* release profiles of α -asarone from α -asarone raw materials and PEG-PLA- α -asarone nanoparticles($\bar{x} \pm s, n=3$)

A-pH value of dissolution medium was 5.5; B-pH value of dissolution medium was 7.4.

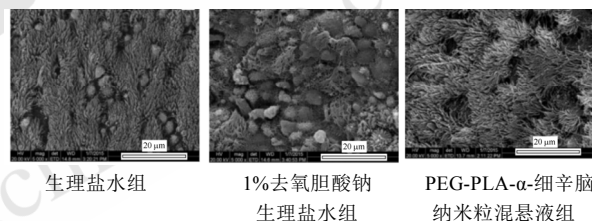


图7 大鼠鼻纤毛扫描电镜图

Fig. 7 Scanning electron microscopy of epithelial cells on rat's mucosa after intranasal administration

3 讨论

α -细辛脑是中药石菖蒲 *Acorus tatarincuii* Schott 的主要活性成分之一, 通过抗氧化、抗炎、抑制海马神经元活性及 GABA 受体的表达等作用治疗癫痫^[14-15], 但现有制剂仍存在生物利用度低^[16]、肝脏首过效应强、药物易沉积于肺部^[17], 靶向性低、毒性大等缺点^[18]。纳米粒作为胶态药物载体有许多独特的优点, 应用极其广泛, 有研究将毒性药物三氧化二砷^[19]、雷公藤甲素^[20]等制成纳米粒以达到降低药物毒性的目的, 将紫杉醇^[21]制备成纳米粒以达到靶向的目的等。

PLA 纳米粒表面疏水, 入血后易与血浆蛋白等成分结合, 在体内消除迅速^[22]。PEG 具有亲水

性、柔性、抗凝血性、抗巨噬细胞吞噬性、抵抗免疫识别、不与蛋白质结合、良好的生物相容性等优点。PEG-PLA 共聚物可延长药物在体内的滞留时间、避免被巨噬细胞吞噬等。

本研究通过有机溶剂挥发法将 α -细辛脑制备成 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒, 制备的纳米粒粒径较小, 药物在纳米粒中以分子分散的状态存在, 在介质中呈双相状态释放。纳米粒度分析仪、透射电镜、差示扫描量热仪及 X 射线衍射法可较好地对接纳米粒进行表征, 可全面体现本研究中纳米粒的特性。大鼠鼻纤毛毒性研究表明 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒鼻腔给药后对鼻纤毛无明显的毒性。鼻腔给药作为一种新型的给药系统, 药物从鼻黏膜迅速进入全身血液循环而直接发挥治疗作用, 具有吸收快, 起效迅速, 避免肝脏首过效应和胃肠道降解等作用。此外, 文献报道 PEG-PLA 纳米粒经鼻腔给药可提高药物穿透黏膜的能力^[23-24]。本研究制备的 PEG-PLA- α -细辛脑纳米粒对于其应用于鼻腔给药具有一定的指导作用。

REFERENCES

- [1] TU Z Q, LI J H, ZHOU Y G. Progress of PLA block PEG copolymers micelles used in drug delivery system [J]. Guangzhou Chem Indust(广州化工), 2014, 42(15): 13-16, 33.
- [2] NORNOO A O, OSBORNE D W, CHOW S L. Cremophor-free intravenous microemulsions for paclitaxel I: formulation, cytotoxicity and hemolysis [J]. Int J Pharmaceut, 2008, 349(1/2): 108-116.
- [3] NORNOO A O, OSBORNE D W, CHOW D S. Cremophor-free intravenous microemulsions for paclitaxel II. Stability, in vitro release and pharmacokinetics [J]. Int J Pharmaceut, 2008, 349(1/2): 117-123.
- [4] ZHEN Z W, XIAO R Z, WANG X L, et al. Study progress of polyethylene glycol-poly(lactic acid) block copolymer nanoparticles [J]. Progr Mod Biomed(现代生物医学进展), 2012, 12(1): 179-182, 191.
- [5] LU J, FU T M, QIAN Y Y, et al. Distribution of α -asarone in brain following three different routes of administration in rats [J]. Eur J Pharmaceut Sci, 2014(63): 63-70.
- [6] LU J, GUO L W, FU T M, et al. Pharmacokinetics of α -asarone after intranasal and intravenous administration with PLA- α -asarone nanoparticle [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42(12): 2366-2372.
- [7] LU J, YU X E, FU T M, et al. Response surface methods for formulation optimization of PLA- α -asarone nanoparticles [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(2): 182-187.
- [8] LU J, ZHAN G J, GUO L W, et al. Preparation, characterization of PLA- α -asarone nanoparticles and its toxicity to nasal mucosa [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(10): 22-28.
- [9] ZHANG X X, CAO H X, GAN Y, et al. Preparation of nanostructured lipid carriers containing hydroxycamptothecin and its in vitro drug release [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2006, 37(12): 820-823, 832.
- [10] GONG L Y, HU K, YANG X L. Preparation and release characteristics of enrofloxacin chitosan nanoparticles *in vitro* [J]. J Shanghai Fisheries Univ(上海海洋大学学报), 2009, 18(3): 321-326.
- [11] ZHANG S J, JIAO W W, ZHANG Y, et al. Preparation of isoandrographolide solid lipid nanoparticles and their in vitro release [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43(12): 2390-2395.
- [12] FENG W J, GUAN Q X, ZHANG L, et al. Study on release in vitro of syringopicroside PLGA nanoparticles [J]. J Harbin Univ Commerce(Nat Sci Ed)(哈尔滨商业大学学报: 自然科学版), 2014, 30(4): 395-397, 401.
- [13] 卢燕香, 张海燕, 郭兆荣, 等. 聚乳酸-羟基乙酸载药微球控制体外释放因素的研究进展 [J]. 中国药师, 2009, 12(5): 575-577.
- [14] PAGES N, MAUROIS P, DELPLANQUE B, et al. Activities of α -asarone in various animal seizure models and in biochemical assays might be essentially accounted for by antioxidant properties [J]. Neurosci Res, 2010, 68(4): 337-344.
- [15] HUANG C, LI W G, ZHANG X B, et al. Alpha-asarone from Acorus gramineus alleviates epilepsy by modulating A-type GABA receptors [J]. Neuropharmacol, 2013, 65(5): 1-11.
- [16] ZHAO Z Y, DU P Y, HUANG Z W, et al. Formulation and in vitro evaluation of asarone dry powder inhalation [J]. Pharm Today(今日药学), 2017, 27(9): 595-598.
- [17] QIAN Y Y, LU J, ZHANG L H, et al. Pharmacokinetic study on dry powder inhalation administration of α -asarone in rats [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40(4): 739-743.
- [18] DENG S, ZHANG D B, LUO J, et al. Study on abnormal toxicity test standard of asarone injection preparation [J]. Chin J Comparative Med(中国比较医学杂志), 2016, 26(3): 35-39.
- [19] HAN W, ZHU Y H, SHU H, et al. Preparation of arsenic trioxide nanoparticles by orthogonal design and central composite design-response surface methodology [J]. Chem Eng(化学工程师), 2018, 32(2): 75-78.
- [20] QIAO W Z, CAO X, ZHANG Z R, et al. Celastrol-loaded macrophage membrane camouflaged PEG-PLGA nanoparticles for targeted therapy of severe acute pancreatitis in rats [J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2018, 53(1): 127-132.
- [21] LI J M, LI R R, TIAN J Z. Optimization of formulation and process of paclitaxel mPEG-PDLLA nanoparticles by Box-Behnken response surface methodology [J]. Chin J New Drug(中国新药杂志), 2018, 27(8): 927-933.
- [22] LIN D H, LI G, SUN X Y. Innovative strategy and characterization protocol of nanoparticle carriers drug delivery system through mucosa barrier [J]. J Int Pharm Res(国际药理学研究杂志), 2010, 37(6): 435-438, 445.
- [23] TOBÍO M, GREF R, SÁNCHEZ A, et al. Stealth PEG-PLA nanoparticles as protein carriers for nasal administration [J]. Pharm Res, 1998, 15(2): 270-275.
- [24] TOBÍO M, SÁNCHEZ A, VILA A, et al. The role of PEG on the stability in digestive fluids and in vivo fate of PEG-PLA nanoparticles following oral administration [J]. Colloids Surfaces B: Biointerfaces, 2000, 18(3): 315-323.

收稿日期: 2018-11-21

(本文责编: 蔡珊珊)