

转铁蛋白受体单克隆抗体 OX26 修饰的眼镜蛇神经毒素脂质体的制备及其对小鼠的镇痛作用研究

肖瑶^{1*}, 柳琳², 朱潇冉¹, 杨慧¹, 张幸国^{2#} (1. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 2. 浙江大学医学院附属第一医院药剂科, 杭州 310003)

中图分类号 R943; R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)13-1827-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.13.31

摘要 目的: 制备转铁蛋白受体单克隆抗体 OX26 修饰的眼镜蛇神经毒素(α CT)脂质体(OX26- α CT-LP), 考察其理化性质、体外释放行为, 并研究其镇痛作用。方法: 采用薄膜分散-挤出法制备 α CT-LP, 巯基化后的 OX26 再与脂质体相连制得 OX26- α CT-LP。考察所制脂质体的形态、粒径、Zeta 电位; 采用透析袋法考察 OX26- α CT-LP 和 α CT-LP 在 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中 60 h 内的释放特性; 采用小鼠热板法考察鼻黏膜滴注生理盐水、 α CT 原料药、 α CT-LP 和 OX26- α CT-LP 对小鼠舔后足反应潜伏期的影响。结果: 所制 OX26- α CT-LP 形态呈球形, 均匀圆整, 平均粒径为 (106.3 ± 5.36) nm, Zeta 电位为 (-23.17 ± 1.14) mV, 药物包封率为 $(56.82 \pm 1.18)\%$; OX26- α CT-LP 和 α CT-LP 的体外释药行为均符合 Weibull 方程 ($r=0.9867, 0.9810$); 与生理盐水比较, α CT-LP 和 OX26- α CT-LP 给药后 60~480 min 内能明显延长小鼠舔后足反应的潜伏期 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 且 OX26- α CT-LP 效果强于 α CT-LP ($P<0.01$)。结论: 成功制得对小鼠有一定镇痛作用的 OX26- α CT-LP。

关键词 转铁蛋白受体单克隆抗体 OX26; 眼镜蛇神经毒素; 脂质体; 制备; 镇痛作用; 小鼠

Preparation of α -cobrotoxin Loaded Liposome Modified with Transferrin Receptor Monoclonal Antibody OX26 and Its Analgesic Effects on Mice

XIAO Yao¹, LIU Lin², ZHU Xiao-ran¹, YANG Hui¹, ZHANG Xing-guo² (1. College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Medicine School, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare the α -cobrotoxin (α CT) loaded liposome modified with transferrin receptor monoclonal antibody OX26 (OX26- α CT-LP), detect the physicochemical properties and release feature *in vitro* and study the analgesic effects. METHODS: Film dispersion-extrusion was conducted to prepare the α CT-LP and OX26- α CT-LP was prepared by thiolated OX26 and liposomes. The morphology, particle size and Zeta potential were determined; dialysis bag method was used to determine the release characteristics of OX26- α CT-LP and α CT-LP in pH 7.4 phosphate buffer solution within 60 h; mice hot plate method was used to determine the effects of infusion saline of nasal mucosa, α CT raw material medicine, α CT-LP and OX26- α CT-LP on the incubation period of the response of mice licking hind foot. RESULTS: The prepared OX26- α CT-LP was spherical, uniform and complete, with the average particle size of (106.3 ± 5.36) nm, the Zeta potential of (-23.17 ± 1.14) mV and the encapsulation efficiency of $(56.82 \pm 1.18)\%$. The releases *in vitro* of OX26- α CT-LP and α CT-LP were all conformed to Weibull equation ($r=0.9867, 0.9810$). Compared with normal saline, α CT-LP and OX26- α CT-LP administration could obviously prolong the incubation period of the response of mice licking hind foot within 60-480 min ($P<0.01$ or $P<0.05$) and OX26- α CT-LP was better than α CT-LP ($P<0.01$). CONCLUSIONS: OX26- α CT-LP that has analgesic effect on mice is successfully prepared.

KEYWORDS Transferrin receptor monoclonal antibody OX26; α -Cobrotoxin; Liposome; Preparation; Analgesic effect; Mice

眼镜蛇神经毒素(α -Cobrotoxin, α CT)是从中华眼镜蛇蛇毒中分离出的一种蛋白, 由 62 个氨基酸通过 4 个二硫键连接组成。现代药理学研究表明, α CT 主要通过中枢神经系统发挥强大的镇痛作用, 其镇痛强度比吗啡高数十倍, 但无成瘾性, 尤其适用于控制癌性疼痛、神经病理性疼痛等^[1-2]。但是, α CT 肌肉注射不易通过血脑屏障(Brain blood barrier, BBB), 故难以到达镇痛部位以充分发挥药效。

转铁蛋白受体(Transferrin receptor, TFR)高度表达于 BBB

* 硕士研究生。研究方向: 药物新剂型与新技术。E-mail: 243103363@qq.com

通信作者: 主任药师, 博士。研究方向: 药物新剂型与新技术。E-mail: 0571-87236675

的脑毛细血管内皮细胞膜上, TFR 的单克隆抗体 OX26 可通过 TFR 介导内吞, 透过 BBB 转运入脑, 以 OX26 为靶向功能基可以介导与其连接的载药系统入脑^[3]。笔者制备了 OX26 修饰的 α CT 脂质体(OX26- α CT-LP), 其可通过主动靶向作用, 增大 α CT 的入脑量。药物鼻黏膜给药除可通过体循环透过 BBB 进入脑组织外, 还可通过嗅神经通路及嗅黏膜上皮通路而直接吸收入脑^[4], 使药物更好地入脑发挥疗效, 并且可以避免胃肠道降解和肝脏首关效应, 故本实验选择小鼠鼻黏膜滴注给药研究 OX26- α CT-LP 的镇痛作用。

1 材料

1.1 仪器

Nano-ZS 型粒径分析仪(英国 Malvern 公司); Optima 型超

速低温离心机(美国 Beckman 公司);pH 酸度计(瑞士 Mettler-Toledo 公司);RF-5301PC 型荧光分光光度计(日本 Shimadzu 公司);TGL-16B 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

α CT 原料药(云南龙凤谷生物药业有限公司,批号:2014-3-10,纯度:97%,相对分子质量:6 930);异硫氰酸荧光素标记的 α CT(FITC- α CT,浙江中医药大学中药制剂实验室自制,批号:2014-5-24);蛋黄卵磷脂(EPC)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇(DSPE-PEG2000)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-马来酰亚胺(DSPE-PEG2000-MAL)、胆固醇(上海艾韦特医药科技有限公司);OX26(英国 AbDSerotec 公司);10 nm 胶体金标记羊抗小鼠免疫球蛋白 G(IgG)、2-亚氨基硫烷盐酸盐(美国 Sigma 公司)。

1.3 动物

ICR 小鼠,♀,体质量(20 ± 2) g,由浙江省实验动物中心提供,使用许可证号为 SCXK(浙)2014-0001。

2 方法与结果

2.1 OX26- α CT-LP 的制备

采用薄膜分散-挤出法,按摩尔比 3:2:0.04:0.002 精密称取 EPC、胆固醇、DSPE-PEG2000、DSPE-PEG2000-MAL,加 4 ml 氯仿-甲醇(2:1, V/V)使充分溶解,置入圆底烧瓶中,于 45 °C 恒温水浴中减压旋转蒸发去除有机溶剂,形成均匀薄膜,加入 0.5 g/L 的 FITC- α CT 100 μ l,然后加入 6 ml pH 7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)至圆底烧瓶中,旋转洗膜 1 h,使脂质膜充分溶胀水化,得到脂质体混悬液,连续依次通过 100 nm、50 nm 聚碳酸酯膜各 2 次,即得 α CT-LP。

采用 2-亚氨基硫烷盐酸盐巯基化 OX26。用马来酰亚胺法将巯基化的 OX26 与脂质体相连,即将 α CT-LP 与巯基化的 OX26 按马来酰亚胺基-巯基(3:1,物质的量之比)混合,避光磁力低速搅拌反应 8 h,反应后的溶液过 Sepharose CL-4B 柱(20 cm \times 1.5 cm)除去未结合的 OX26,洗脱液为 0.01 mol/L PBS,收集脂质体混悬液,即得 OX26- α CT-LP。

2.2 FITC- α CT 含量测定方法的建立

2.2.1 测定条件 采用荧光分光光度法测定 FITC- α CT 的荧光强度^[5]。选择激发波长 λ_{ex} 为 492 nm,发射波长 λ_{em} 为 525 nm。

2.2.2 标准曲线的绘制 精密量取 FITC- α CT 溶液适量,置于 10 ml 量瓶中,加蒸馏水定容,稀释成 0.019 5、0.039 1、0.078 1、0.156 3、0.312 5、0.625、1.25、2.5 μ g/ml 的系列标准液,荧光分光光度法测定荧光强度(F)。以 F 对质量浓度(c)进行线性回归,得回归方程为 $F=323.39c+7.173 8(r=0.999 9)$ 。结果表明, FITC- α CT 在 0.019 5~2.5 μ g/ml 质量浓度范围内与其荧光强度呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 制备质量浓度分别为 0.2、1.0、2.0 μ g/ml 的 FITC- α CT 溶液,每个浓度测定 6 次,连续测定 6 d,考察日内、日间精密度。结果日内、日间 RSD 均小于 2% ($n=6$)。

2.2.4 回收率试验 取已知浓度的同一供试品,分别加入质量浓度分别为 0.2、1.0、2.0 μ g/ml 的 FITC- α CT 溶液,每个浓度连续测定 3 次,计算回收率。结果平均回收率分别为 97.63%、97.80%、96.98%,RSD 分别为 1.21%、1.08%、0.95% ($n=3$)。

2.2.5 稳定性考察 移取 FITC- α CT 溶液,分别于 0、4、8、12、16、24 h 测定其荧光强度。结果 24 h 内 FITC- α CT 荧光强度的

RSD 为 1.89% ($n=6$)。

2.3 OX26- α CT-LP 的理化性质考察

2.3.1 形态观察 所制得的 OX26- α CT-LP 为半透明有蓝色乳光的混悬液。取适量 OX26- α CT-LP 混悬液滴于铜网上,2.0% (m/V , pH 7.0) 磷钨酸溶液负染 3 min,自然挥干,用透射电镜观察。结果可见多数粒子形态圆整,为球形或近球形,详见图 1(A)。

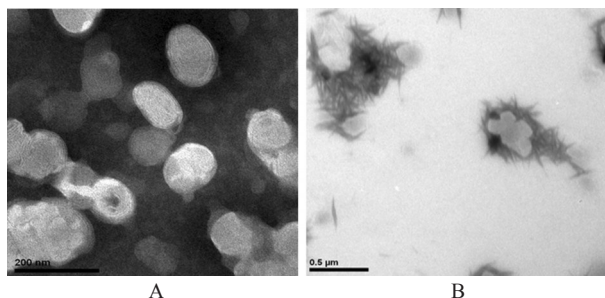


图 1 OX26- α CT-LP 的透射电镜图

A. OX26- α CT-LP ($\times 150 000$); B. 胶体金标记后的 OX26- α CT-LP ($\times 50 000$)

Fig 1 TEM photograph of OX26- α CT-LP

A. OX26- α CT-LP ($\times 150 000$); B. OX26- α CT-LP labeled with colloidal gold ($\times 50 000$)

2.3.2 粒度和 Zeta 电位测定 取适量超纯水稀释 OX26- α CT-LP,用 Nano-ZS 型粒径分析仪测定其粒径、多分散系数以及 Zeta 电位。结果 OX26- α CT-LP 的平均粒径为 (106.3 ± 5.36) nm,多分散系数为 0.094 ± 0.006 ,Zeta 电位为 (-23.17 ± 1.14) mV。

2.3.3 包封率测定 采用超滤离心法,精密量取 OX26- α CT-LP 适量加入超滤离心管(30 kD)中离心超滤(15 093 \times g),将脂质体与未封装的游离药物分离。通过测定游离药物的荧光强度代入回归方程,求得游离药物质量浓度 $c_{游离}$;按投料量计算 OX26- α CT-LP 中总药物质量浓度 $c_{总}$;按公式计算包封率,包封率(%) = $(1 - c_{游离}/c_{总}) \times 100\%$ 。结果 OX26- α CT-LP 的包封率为 (56.82 ± 1.18) %。

2.3.4 表面共价连接 OX26 的鉴定^[6] 采用免疫胶体金染色透射电镜,将 OX26- α CT-LP(含 10~30 μ g)与未稀释的胶体金标记羊抗小鼠 IgG($5 \times 10^{11} \sim 15 \times 10^{11}$ 个金微粒)溶液于 37 °C 孵育 1 h,孵育液为 0.018 mol/L 的 Tris 缓冲液(pH 8.0,含 0.5% 牛血清白蛋白和 12% 甘油),过 Sepharose CL-4B 柱除去未结合的胶体金标记羊抗小鼠 IgG,收集脂质体混悬液,2% 磷钨酸负染后,透射电镜观察。结果显示,OX26- α CT-LP 与胶体金标记羊抗小鼠 IgG 孵育后表面标记有黑色的胶体金微粒,证实该脂质体表面连有 OX26,且 OX26 仍保持免疫活性,透射电镜见图 1(B)。

2.4 体外释药特性研究

采用透析袋法对脂质体的释药特性进行研究。精密量取 OX26- α CT-LP 和 α CT-LP 各 2.0 ml 至透析袋中,两端夹紧后置于 150 ml pH 7.4 的 PBS 中,于 37 °C 恒温水浴振荡(75 r/min),分别在 0、1、2、4、6、8、12、24、48、60 h 取样,同时补加等量介质。所取样品参照“2.2”项下的方法测定荧光强度,计算药物累积释药度,绘制累积释药曲线,见图 2。

由图 2 可知,OX26- α CT-LP 和 α CT-LP 的释药行为主要分为突释和缓释两相,前 6 h 属于突释阶段,OX26- α CT-LP 和

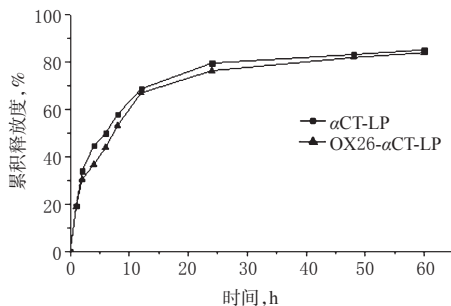


图2 α CT-LP和OX26- α CT-LP的体外释药曲线

Fig 2 Release curves *in vitro* of α CT-LP and OX26- α CT-LP

α CT-LP在6 h内累积释药量均不足50%。OX26- α CT-LP和 α CT-LP的释药情况无明显差异,说明OX26的修饰不影响脂质体体外释药。分别用零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi方程和Weibull方程对OX26- α CT-LP和 α CT-LP在pH 7.4的PBS中的体外释药动力学进行拟合,结果释药行为均符合Weibull方程,拟合方程分别为 $\ln[1/(1-Q)] = 0.534 5 \ln t -$

表1 各组小鼠舔后足反应潜伏期比较($\bar{x} \pm s, n = 10, s$)

Tab 1 Comparison of the incubation period of the response of mice licking hind foot in all groups($\bar{x} \pm s, n = 10, s$)

组别	给药后不同时间											
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min	300 min	360 min	480 min	
正常对照组	12.89 ± 3.24	13.04 ± 3.81	13.09 ± 1.27	12.87 ± 1.71	13.34 ± 2.27	13.40 ± 2.16	12.91 ± 3.35	13.21 ± 2.71	13.08 ± 2.52	13.23 ± 3.29	13.43 ± 3.83	
α CT原料药组	13.07 ± 1.87	13.68 ± 2.23	14.62 ± 2.95	15.56 ± 3.68	16.49 ± 3.98*	16.95 ± 3.65*	16.32 ± 3.80	16.12 ± 3.62	15.53 ± 2.73	15.01 ± 3.50	15.32 ± 1.97	
α CT-LP组	12.47 ± 2.17	13.28 ± 2.31	14.71 ± 2.14	14.64 ± 2.33	17.68 ± 3.33*	19.05 ± 3.09**	20.22 ± 3.71**	19.82 ± 4.32**	19.33 ± 3.88**	17.71 ± 2.57**	16.92 ± 2.92*	
OX26- α CT-LP组	12.83 ± 2.32	14.30 ± 1.77	14.79 ± 2.07	15.04 ± 2.86	18.15 ± 2.20**	20.34 ± 1.97**	22.04 ± 2.10**	24.98 ± 3.12***	25.25 ± 2.55***	21.93 ± 2.57***	19.33 ± 2.33**	

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 α CT-LP组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. normal control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$; vs. α CT-LP group,* $P < 0.01$

OX26- α CT-LP组小鼠给药后60~480 min内舔后足反应潜伏期均延长,差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与 α CT-LP组比较,OX26- α CT-LP组小鼠给药后240~360 min的舔后足反应潜伏期延长,差异有统计学意义($P < 0.01$)。以上结果表明,OX26- α CT-LP在一定时间范围内镇痛作用强于 α CT-LP。

3 讨论

脑内靶向递药系统的研究为药物的脑内传递带来新的希望,其中尤以通过受体介导转运入脑的微粒递药系统的研究最为成功,代表性的研究为OX26介导入脑的空间稳定免疫脂质体^[6]。本文的研究结果初步表明,通过耦联抗体OX26可以介导脂质体携带药物入脑发挥疗效,其具有诸多优点,但也存在某些不足,如载药系统脂质体以液体剂型存在时,其体内外稳定性相对较差^[9]。本实验已成功制备OX26- α CT-LP混悬液,有文献报道,选择适宜的冻干保护剂将脂质体制成冻干制剂可以显著提高其贮存稳定性^[10-11]。所以今后考虑将OX26- α CT-LP制成冻干脂质体,以期提高制剂的长期贮存稳定性。

将OX26与纳米粒或脂质体相连多采用马来酰亚胺法。该法利用脂质体表面含有的马来酰亚胺基功能团能够与蛋白的巯基相连的特点实现脂质体与OX26相连。马来酰亚胺法反应条件温和可控,得到脂质体或纳米粒表面连接的OX26可以保持其生物活性,但蛋白连接效率不高,仅为10%。由于OX26试剂昂贵,有必要进一步优化试验,提高其与脂质体的连接效率。采用马来酰亚胺法将蛋白与脂质体连接,连接效率可随PEG链长的增加而增加。因此今后的试验可考虑优化

1.452 ($r = 0.986 7$)及 $\ln[1/(1-Q)] = 0.517 \ln t - 1.308 9$ ($r = 0.981 0$)。

2.5 药效学研究

小鼠热板法参照药理实验方法学^[7]。实验前测定小鼠舔后足反应的潜伏期,筛选出舔后足反应的潜伏期在5~30 s的小鼠40只。将小鼠随机分为正常对照组、 α CT原料药组、 α CT-LP组和OX26- α CT-LP组,每组10只。正常对照组小鼠鼻黏膜滴注等容积的生理盐水,其余各组按20 μ g/kg α CT鼻黏膜滴注相应的药物。实验时,将小鼠放在已加热到(55.0 \pm 0.5) $^{\circ}$ C的热板上,记录小鼠舔后足反应的潜伏期。在给药前,每隔5 min连续记录3次舔后足反应的潜伏期,取平均值。给药后15、30、45、60、120、180、240、300、360、480 min分别记录小鼠舔后足反应的潜伏期。采用SPSS 16.0软件处理,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,样本比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。各组小鼠舔后足反应潜伏期比较见表1。

由表1显示,与正常对照组比较, α CT原料药组小鼠仅给药后60、120 min时舔后足反应潜伏期延长, α CT-LP组、

PEG链长以提高OX26与脂质体的连接效率,从而增大其介导的药物载体入脑量。

本次镇痛作用研究结果表明,耦联抗体OX26的脂质体鼻黏膜给药后镇痛效果要显著高于未经OX26修饰的脂质体。这提示OX26修饰后 α CT-LP与BBB上的转铁蛋白受体结合,易透过BBB,从而发挥更好的镇痛药效。OX26免疫脂质体有望成为无法通过BBB的中枢性药物的高效载体,OX26- α CT-LP的成功制备为 α CT脑靶向制剂的开发及临床应用奠定了基础,同时为蛋白多肽类药物鼻黏膜给药系统的开发提供了重要的理论依据和实验参考。

参考文献

- [1] Cheng BC, Zhou XP, Zhu Q, *et al.* Cobratoxin inhibits pain-evoked discharge of neurons in thalamic parafascicular nucleus in rats: involvement of cholinergic and serotonergic systems[J]. *Toxicol*, 2009, 54(3): 224.
- [2] 梁映霞, 张志宇. 眼镜蛇毒活性成分对神经病理性疼痛模型大鼠的镇痛作用及K_{ATP}通道阻滞药对其的影响研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(25): 2 331.
- [3] Pang Z, Lu W, Gao H, *et al.* Preparation and brain delivery property of biodegradable polymersomes conjugated with OX26[J]. *J Control Release*, 2008, 128(2): 120.
- [4] 邓树海. 现代药物制剂技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 34.
- [5] Chen S, Xu Y, Xu F, *et al.* Separation and determination of amino acids by micellar electrokinetic chromatography

碘化钾微乳的制备及其体外透皮吸收作用考察

易 蕾*, 赵 瑛(武汉科技大学附属天佑医院, 武汉 430064)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)13-1830-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.13.32

摘要 目的:制备碘化钾微乳并考察其透皮吸收的效果。方法:以伪三元相图为基础,依据微乳区域大小,确定微乳的油相、乳化剂、助乳化剂和后二者的比例(K_m),初步筛选微乳处方;采用改进的Franz扩散池和离体小鼠皮肤进行体外经皮渗透试验,比较所制5%、10%碘化钾微乳与5%碘化钾溶液单位面积的累积渗透量(Q_n),并对微乳进行加速稳定性试验。结果:碘化钾微乳的最优处方为碘化钾10%(m/V)、水23%、混合乳化剂(月桂山梨坦-乙醇 K_m 值为1:1)61.6%、油相(丙二醇单辛酸酯)15.4%;所制微乳的渗透过程符合一级速率方程,3种样品的 Q_{24h} 分别为(5.40±0.28)、(8.75±0.42)、(2.12±0.20) mg/cm²;40℃下贮存4周后所制微乳与贮存前比较pH、含量、外观均未见明显变化。结论:成功制得具有透皮吸收作用的碘化钾微乳。

关键词 碘化钾微乳;透皮吸收;制备;质量评价

Study on the Preparation of KI Microemulsion and Its Percutaneous Absorption *in vitro*

YI Lei, ZHAO Ying (Tianyou Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare KI microemulsion and study its percutaneous absorption *in vitro*. METHODS: Based on the pseudo-ternary phase diagram and according to the area of microemulsion, the oil phase, emulsifier, co-emulsifier and the ratio of the latter two (K_m value) were determined and the microemulsion formulation was preliminary screened. Improved Franz diffusion cell and isolated mice skin were used for the percutaneous penetration test *in vitro*, and the cumulative penetration amount (Q_n) of unit area in prepared 5% and 10% KI microemulsion and 5% KI solution was compared. Accelerated stability test was used for microemulsion. RESULTS: The optimal formulation of KI microemulsion was KI 10% (m/V), water 23%, mix-emulsifier (laurel sorbitan-ethanol, $K_m=1:1$) 61.6% and oil phase (propylene glycol monocaprylate) 15.4%. The permeation process of microemulsion was in line with the first-order rate equation and the Q_{24h} of 3 kinds of samples were respectively (5.40±0.28), (8.75±0.42), (2.12±0.20) mg/cm². There were no obvious changes of pH, content and appearance of microemulsion after 4 weeks storing in 40℃ and before storing. CONCLUSIONS: The KI microemulsion with permeation effects is successfully prepared.

KEYWORDS KI microemulsion; Percutaneous absorption; Preparation; Quality evaluation

碘化钾在临床上主要用于补碘、祛痰、防治单纯性甲状腺肿及甲状腺功能亢进症手术前准备等。近年来碘化钾在临床应用不断扩大,广泛用于皮肤科、眼科、关节炎、铅性肾病及乳

腺增生等疾病的治疗,取得了满意效果^[1]。碘化钾是极易溶于水的无机盐,具有引湿性,在空气中易氧化,有光敏性及湿不稳定性^[2]。其溶液剂和普通片剂由于药物溶出快、黏膜刺激性

coupling with novel multiphoton excited fluorescence detection[J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1162(2):149.
[6] Olivier JC, Huertas R, Lee HJ, *et al.* Synthesis of pegylated immunonanoparticles[J]. *Pharm Res*, 2002, 19(8):1137.
[7] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 770-774.
[8] Pardridge WM. Blood-brain barrier delivery[J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12(1/2):54.
[9] Discher DE, Ortiz V, Srinivas G, *et al.* Emerging applications of polymersomes in delivery: from molecular dynamics to shrinkage of tumors[J]. *Prog Polym Sci*, 2007,

32(8/9):838.
[10] Mohammed AR, Bramwell VW, Kirby DJ, *et al.* Increased potential of a cationic liposome-based delivery system: enhancing stability and sustained immunological activity in pre-clinical development[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(3):404.
[11] Wieber A, Selzer T, Kreuter J. Physico-chemical characterization of cationic DOTAP liposomes as drug delivery system for a hydrophilic decapeptide before and after freeze-drying[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, 80(2):358.

* 主管药师。研究方向:医院药学与医院制剂。E-mail:321973499@qq.com

(收稿日期:2015-02-01 修回日期:2015-03-17)
(编辑:邹丽娟)