# 载葛根素聚乙烯亚胺/海藻酸钠自组装纳米粒的制备及性能研究

赵 庭[1]，贾运涛[2]，张良珂[1*]

1. 重庆医科大学药学院 重庆高校药物工程研究中心，重庆市生物化学与分子药理学重点实验室，重庆 400016
2. 重庆医科大学附属儿童医院 药剂科，重庆 400010

**摘 要：目的** 构建载葛根素（Pur）聚乙烯亚胺/海藻酸钠（PEI/ALG）自组装纳米粒（Pur-PEI/ALG-NPs），并考察其制备工艺与性能。**方法** 采用自组装法制备 Pur-PEI/ALG-NPs；采用 UV 法定量，采用马尔文粒度仪对 Pur-PEI/ALG-NPs 进行表征；并考察其体外释放行为；以包封率和载药量为评价指标，采用中心组合设计-效应面法（CCD-RSM）优化 Pur-PEI/ALG-NPs 处方。**结果** 优化后的处方：PEI 质量浓度为 3.2 mg/mL，ALG 质量浓度为 1.3 mg/mL，PEI-ALG 质量比为 3.75∶1，平均粒径为（118.0±0.4）nm，Zeta 电位为（35.2±0.7）mV，包封率为（24.13±1.78）%，载药量为（11.17±0.71）%；体外释放结果表明 Pur-PEI/ALG-NPs 加快了 Pur 的释放速率。**结论** 成功制备了 Pur-PEI/ALG-NPs，粒径小且分布集中，表面具有丰富的正电荷，为葛根素在临床眼部治疗奠定了基础。

**关键词：**聚乙烯亚胺；葛根素；海藻酸钠；中心组合设计-效应面法；自组装纳米粒

**中图分类号：**R283.6 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2017)17 - 3523 - 06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.17.012

# Preparation and characterization of puerarin-loaded polyethyleneimine/sodium alginate nanoparticles

ZHAO Ting[1], JIA Yun-tao[2], ZHANG Liang-ke[1]

1. Research Center for Pharmaceutical Engineering of Chongqing, Chongqing Key Laboratory for Biochemistry and Molecular Pharmacology, College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China
2. Department of Pharmacy, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

**Abstract: Objective** To develop the puerarin-loaded polyethyleneimine/alginate nanoparticles (Pur-PEI/ALG-NPs) and investigate their physicochemical properties. **Methods** The Pur-PEI/ALG-NPs were prepared by electrostatic interaction. The particle size and Zeta potential of nanoparticles were measured by laser light scattering using a Zeta sizer ZEN3600, *in vitro* release curves for which were studied. The formulation variables were optimized by central composite design-response surface methodology (CCD-RSM) with entrapment efficiency and drug loading as dependent variables. **Results** An optimal formulation was confirmed as follows: polyethyleneimine concentration was 3.2 mg/mL, alginate concentration was 1.3 mg/mL and the mass ratio of PEI/ALG was 3.75. The resulting nanoparticles exhibited entrapment efficiency of (24.13 ± 1.78)% and drug loading of (11.17 ± 0.71)%, respectively. Zeta potential of nanoparticles was found to be (35.2 ± 0.7) mV, with the average diameter of (118.0 ± 0.4) nm. *In vitro* release test proved that nanoparticles accelerated the release rate of Pur. **Conclusion** Pur-PEI/ALG-NPs are prepared successfully with narrow particle size distribution and rich positive charge, which may lay the foundation for further clinical ocular application of Pur.

**Key words:** polyethyleneimine; puerarin; sodium alginate; central composite design-response surface methodology; self-assembled nanoparticles

葛根素（puerarin，Pur）具有降低眼内压、增强血流量及改善视网膜微循环的功能，同时对治疗老龄化黄斑病有良好的效果[1-3]。传统滴眼液因泪液分泌、鼻泪管清除等原因导致其眼部生物利用度较低[4-5]。新兴纳米技术应用于眼部给药有望减少给药刺激性，缓释药物，并提高药物渗透率[6-8]。聚乙烯

**收稿日期：**2017-04-15

**基金项目：**重庆市自然科学基金资助项目（cstc2016jcyjA0068）

**作者简介：**赵 庭（1992—），女，硕士研究生，主要从事中西药物新型给药系统研究。Tel: (023)68485161 E-mail: 1139357422@qq.com

***通信作者** 张良珂，男，教授。Tel: (023)68485161 E-mail: zlkdyx@126.com

亚胺（polyethyleneimine，PEI）具有丰富的正电荷，可与带负电荷的眼角膜相互作用，其形成的纳米粒有望增加滞留时间，降低清除率，提高药物的生物利用度[9-11]。本实验以 PEI 和海藻酸钠（sodium alginate，ALG）为材料，制备葛根素-聚乙烯亚胺/海藻酸钠自组装纳米粒（Pur-PEI/ALG-NPs），为葛根素新型眼用制剂的临床应用奠定了基础。

## 1 仪器与材料

UV/Vis-2600 型紫外分光光度计，日本岛津公司；DF-lO1S 恒温加热磁力搅拌器，巩义市予华仪器；ZEN3600 型激光粒度仪，英国马尔文公司；R18 型高速冷冻医用离心机，北京白洋医疗器械有限公司；Avatar 330FT-IR 型红外光谱仪，美国 Thermo Nicolet 公司；KQ2200E 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司。

PEI，分枝状，相对分子质量 600，上海阿拉丁试剂公司，批号 F1518083；ALG，美国 FMC 公司，批号 S22278；Pur 原料药，西安小草植物科技有限公司，质量分数 98%，批号 XC10050；实验用水为超纯水，其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 Pur-PEI/ALG-NPs 与 PEI/ALG-NPs 的制备

采用自组装法[12]制备 Pur-PEI/ALG-NPs。称取处方量 PEI 溶于 0.5%醋酸溶液中，在搅拌条件下将质量浓度为 1.0 mg/mL 的 Pur 药物溶液缓慢滴入上述 PEI 溶液中，30 ℃恒温搅拌 10 min，缓慢匀速地滴加处方量的 ALG 溶液，继续搅拌 30 min，即得 Pur-PEI/ALG-NPs。PEI/ALG-NPs 的制备方法同上，无投药步骤，即得 PEI/ALG-NPs。

### 2.2 药物的定量测定

**2.2.1** 检测波长的确定 称取适量 Pur，溶解于水，在波长 200～800 nm 扫描，结果显示 Pur 在 250 nm 处有最大吸收，而载体 PEI 和 ALG 在此处基本无紫外吸收，因此以 250 nm 作为检测波长。

**2.2.2** 标准曲线的绘制 精密称取 5.0 mg Pur，溶解后稀释成 3.0、5.0、6.0、7.0、9.0、10.0 μg/mL 的溶液，分别于 250 nm 处测定吸光度（$A$）值，以 $A$ 值对药物质量浓度（$C$）进行线性回归，得回归方程：$A$＝0.071 4 $C$－0.000 2，$r$＝0.999 3，表明 Pur 在 3.0～10.0 μg/mL 与 $A$ 值线性关系良好。

**2.2.3** 包封率与载药量的测定 取适量 Pur-PEI/ALG-NPs 于 25 ℃、16 000 r/min 离心 40 min，得上清液，于 250 nm 测定 $A$ 值，代入上述方程计算 Pur 的药物质量浓度，并根据下列公式计算包封率与载药量。

包封率＝纳米粒中药物质量/纳米粒质量

载药量＝(总投药量－游离药量)/总投药量

### 2.3 制备工艺对 Zeta 电位和粒径的影响

由于 PEI 和 ALG 静电作用形成纳米粒，PEI 与 ALG 的质量浓度是纳米粒形成的显著影响因素，因此需要对两者质量浓度以及质量比进行考察。

**2.3.1** ALG 质量浓度对 Pur-PEI/ALG-NPs 的影响 按“2.1”项下制备方法，以 PEI 质量浓度为 2.0 mg/mL，PEI-ALG 质量比为 4∶1，ALG 质量浓度分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL 进行实验，以 Pur-PEI/ALG-NPs 粒径、Zeta 电位作为评价指标。如表 1 所示，ALG 质量浓度变化对 Zeta 电位影响较小，对粒径影响较大，ALG 质量浓度越高则粒径越大，且当 ALG 质量浓度为 3.0 mg/mL，溶液开始出现絮凝物，因此实验选择质量浓度范围在 1.0～3.0 mg/mL 的 ALG 溶液进行研究。

**表 1 ALG 质量浓度对纳米粒粒径及电位分布的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

**Table 1 Effect of concentration of ALG on particle size and Zeta potential ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

| ALG/(mg·mL$^{-1}$) | 外观 | 平均粒径/nm | PDI | Zeta 电位/mV |
|---|---|---|---|---|
| 1.0 | NPs | 116.1±3.4 | 0.134±0.002 | 37.7±0.4 |
| 2.0 | NPs | 162.3±6.0 | 0.179±0.013 | 40.4±0.5 |
| 3.0 | NPs | 224.0±5.0 | 0.233±0.015 | 42.1±0.2 |
| 4.0 | NPs | 282.6±5.5 | 0.254±0.010 | 43.9±0.3 |
| 5.0 | 沉淀 | — | — | — |

“—”表示无法检测出，下同

“—” indicates that it cannot be detected, same as below

**2.3.2** PEI 质量浓度对 Pur-PEI/ALG-NPs 的影响 按“2.1”项下制备方法，以 ALG 质量浓度为 2.0 mg/mL，PEI-ALG 质量比为 4∶1，PEI 质量浓度分别为 1.0、3.0、5.0、7.0 mg/mL 进行实验，以 Pur-PEI/ALG-NPs 粒径、Zeta 电位作为评价指标。结果如表 2 所示，粒径随着 PEI 质量浓度增加而增大，且电位值波动较为明显。PEI 为水溶性高分子聚合物，具有强附着性和吸附性，当 PEI 质量浓度低于 1.0 mg/mL，溶液几乎澄清；随着 PEI 质量浓度上升，纳米体系的黏度逐渐升高，流动性降低，粒径逐渐增大；当 PEI 质量浓度增加到 7.0 mg/mL，滴入少量 ALG 即引发 PEI 团聚从而产生大块沉淀，因此

**表 2 PEI 质量浓度对纳米粒粒径及电位分布的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

**Table 2 Effect of concentration of PEI on particle size and Zeta potential ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

| PEI/(mg·mL$^{-1}$) | 外观 | 平均粒径/nm | PDI | Zeta 电位/mV |
|---|---|---|---|---|
| 1.0 | NPs | 92.9±4.5 | 0.111±0.012 | 37.2±0.3 |
| 3.0 | NPs | 147.3±5.5 | 0.220±0.085 | 40.1±0.1 |
| 5.0 | NPs | 187.7±7.8 | 0.254±0.015 | 35.5±0.5 |
| 7.0 | 沉淀 | — | — | — |

PEI 合适质量浓度为 2.0～5.0 mg/mL。

**2.3.3** PEI-ALG 质量比对 Pur-PEI/ALG-NPs 的影响 按“2.1”项下制备方法，以 PEI 质量浓度为 3.0 mg/mL，ALG 质量浓度为 1.0 mg/mL，PEI-ALG 质量比分别为 1∶1、2∶1、3∶1、4∶1、4.5∶1、5∶1、6∶1 进行实验，以 Pur-PEI/ALG-NPs 粒径、Zeta 电位作为评价指标。结果如表 3 所示，随着 PEI-ALG 质量比增大，电位无显著变化，粒径呈先下降后上升的趋势。当 PEI-ALG 质量比为 1∶1 时，溶液混浊并产生悬浮颗粒；PEI-ALG 质量比为 4∶1 时为粒径转折点，此时游离 PEI、ALG 较少，粒径达到最小值；随着 PEI 的量继续增大，打破纳米混悬液的平衡状态，粒径逐渐增大，出现絮状物质。综合考虑选择 PEI-ALG 质量比范围为 2∶1～5∶1。

**表 3 PEI/ALG 质量比对纳米粒粒径及电位分布的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

**Table 3 Effect of mass ratio of PEI to ALG on particle size and Zeta potential ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

| PEI-ALG 质量比 | 外观 | 平均粒径/nm | PDI | Zeta 电位/mV |
|---|---|---|---|---|
| 1∶1 | 溶液 | — | — | — |
| 2∶1 | NPs | 154.5±6.3 | 0.264±0.010 | 38.1±0.2 |
| 3∶1 | NPs | 119.2±5.5 | 0.131±0.006 | 39.3±0.3 |
| 4∶1 | NPs | 82.8±4.3 | 0.154±0.003 | 36.1±0.5 |
| 4.5∶1 | NPs | 138.2±4.2 | 0.135±0.013 | 39.8±0.9 |
| 5∶1 | NPs | 166.9±7.4 | 0.165±0.011 | 39.4±0.2 |
| 6∶1 | 沉淀 | — | — | — |

## 2.4 中心组合设计-效应面法[13]（CCD-RSM）优化包封率与载药量

**2.4.1** 实验设计 采用 CCD-RSM 考察 PEI 质量浓度（$X_1$）、ALG 质量浓度（$X_2$）、PEI-ALG 质量比（$X_3$）对包封率（$Y_1$）及载药量（$Y_2$）的影响。$X$ 因素均取 5 个水平，见表 4。系统自动安排 20 个试验点，中心点 4 个，析因点 16 个，实验方案的观测值以及其代码见表 4。

**表 4 中心组合试验设计表及结果**

**Table 4 Results of central composite design**

| 试验号 | $X_1$/(mg·mL$^{-1}$) | $X_2$/(mg·mL$^{-1}$) | $X_3$ | $Y_1$/% | $Y_2$/% |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 5.01∶1 (1.682) | 13.5 | 6.9 |
| 2 | 3.00 (1) | 2.00 (1) | 4.50∶1 (1) | 11.5 | 4.9 |
| 3 | 2.00 (−1) | 2.00 (1) | 3.00∶1 (−1) | 10.5 | 6.1 |
| 4 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 21.5 | 10.2 |
| 5 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 23.4 | 11.0 |
| 6 | 3.00 (1) | 1.00 (−1) | 4.50∶1 (1) | 19.6 | 8.1 |
| 7 | 3.00 (1) | 2.00 (1) | 3.00∶1 (−1) | 15.5 | 8.8 |
| 8 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 18.9 | 10.5 |
| 9 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 2.49∶1 (−1.682) | 10.3 | 4.7 |
| 10 | 2.00 (−1) | 1.00 (−1) | 4.50∶1 (1) | 6.2 | 4.0 |
| 11 | 2.50 (0) | 0.66 (−1.682) | 3.75∶1 (0) | 8.9 | 4.5 |
| 12 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 23.5 | 11.0 |
| 13 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 24.3 | 10.7 |
| 14 | 1.66 (−1.682) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 4.3 | 3.2 |
| 15 | 2.00 (−1) | 1.00 (−1) | 3.00∶1 (−1) | 7.1 | 4.2 |
| 16 | 3.00 (1) | 1.00 (−1) | 3.00∶1 (−1) | 19.6 | 8.9 |
| 17 | 2.50 (0) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 21.4 | 10.1 |
| 18 | 3.34 (1.682) | 1.50 (0) | 3.75∶1 (0) | 26.5 | 11.3 |
| 19 | 2.00 (−1) | 2.00 (1) | 4.50∶1 (1) | 7.6 | 4.9 |
| 20 | 2.50 (0) | 2.34 (1.682) | 3.75∶1 (0) | 8.7 | 4.3 |

**2.4.2** 统计模型拟合及效应面分析 以 $Y_1$、$Y_2$ 为响应值，分别对 $X_1$、$X_2$、$X_3$ 进行多元线性方程回归，得到多元二次拟合方程 $Y_1$＝−229.111 38＋68.227 49 $X_1$＋82.416 53 $X_2$＋49.205 3 $X_3$－8.500 00 $X_1X_2$－0.066 667 $X_1X_3$－2.000 00 $X_2X_3$－8.932 69 $X_1^2$－18.266 50 $X_2^2$－6.169 97 $X_3^2$（$R^2$＝0.943 5，$P$＜0.000 1），$Y_2$＝−110.438 14＋33.153 93 $X_1$＋36.742 67 $X_2$＋25.557 47 $X_3$－4.050 00 $X_1X_2$－1.766 67 $X_1X_3$－0.700 00 $X_2X_3$－3.256 98 $X_1^2$－8.136 01 $X_2^2$－2.736 05 $X_3^2$（$R^2$＝0.915 7，$P$＜0.05）。由二次式响应面方差分析结果可知，$F$＝18.57＞4，$P$＜0.05，说明统计差异有显著性意义，失拟项 $P$＝0.276 5 为不显著，表明实验误差小，其中 $X_1$、$X_2$、$X_3$、$X_1^2$、$X_2^2$、$X_3^2$ 是显著项模型。

采用 Design-Expert 8.0.6 软件绘制的三维效应曲面见图 1，随 PEI-ALG 比值增加，$Y_1$、$Y_2$ 均先上

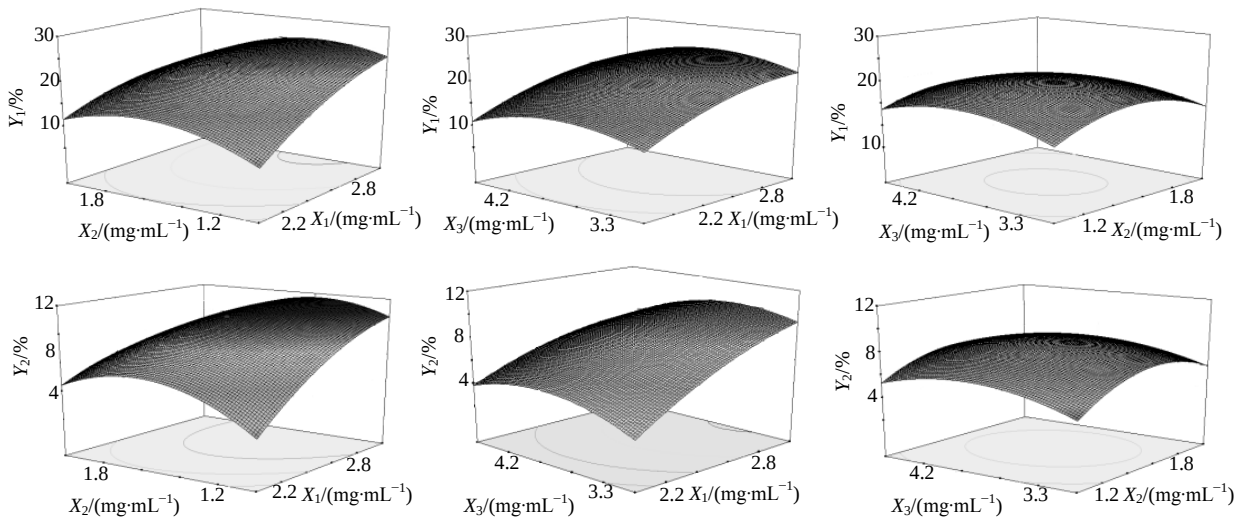



**图 1　不同自变量对应的响应值的 CCD-RSM 图**

**Fig. 1　CCD-RSM diagram displaying different independent variables influence on response variables**

升后下降；当固定 PEI-ALG 比值不变时，$Y_1$、$Y_2$ 均随着 PEI 的质量浓度增加而增大；随 ALG 的质量浓度的增加，$Y_1$、$Y_2$ 则均先升高后逐渐降低。

根据中心组合设计-效应面法三维图、回归方程式以及结合制剂的稳定性综合考虑，以 $Y_1$、$Y_2$ 为评估指标，确定实验方案的最优处方为 $X_1$＝3.2 mg/L，$X_2$＝1.3 mg/mL，$X_3$＝3.75∶1。

按照上述处方平行制备 3 个样品，测定其包封率为（24.13±1.78）%，统计模型 Diagnostic 预测值为 24.72%，偏差［偏差＝(观察值－预测值)/预测值］为−2.9%；载药量为（11.17±0.71）%，预测值为 11.78%，偏差为−5.2%；二者偏差绝对值均低于 10%，由此可以看出，效应面响应值与实际观测值比较接近。

### 2.5　粒径与电位的测定

取 1.0～1.5 mL Pur-PEI/ALG-NPs 溶液，使用马尔文激光粒度仪进行测定。如图 2 所示，Pur-PEI/ALG-NPs 平均粒径为（118.0±0.4）nm，PDI 为 0.150±0.014，Zeta 电位（35.2±0.7）mV。

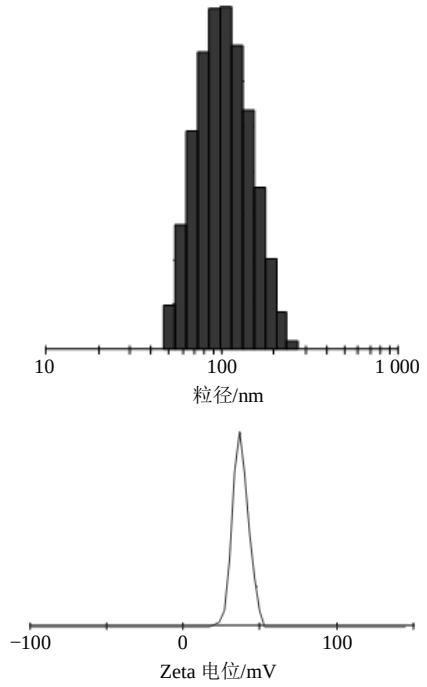



**图 2　Pur-PEI/ALG-NPs 的粒径分布及电位图 (*n* = 3)**

**Fig. 2　Size distribution and Zeta potential of Pur-PEI/ALG-NPs (*n* = 3)**

### 2.6　体外释放特性考察

采用透析法考察 Pur-PEI/ALG-NPs 及 Pur 混悬液（Pur-sus）在人工模拟泪液[14]中的释放行为。模拟泪液的配制过程如下：精密称取 2.18 g 碳酸氢钠、6.78 g 氯化钠、0.063 g 氯化钙和 1.38 g 氯化钾，分别用水溶解后混合，定容至 1 L。精密吸取 1.0 mL 样品溶液于透析袋内，浸入 100 mL 模拟泪液中，（34.0±0.5）℃、100 r/min 下恒温振荡，于预设时间点取样，测定 $A$ 值，同时补充等温等体积模拟泪液，计算药物累积释放率，结果见图 3。Pur 溶解性较差，其释放较为缓慢。而 PEI/ALG 为亲水性载体，对 Pur 的溶出有促进作用，故 Pur-PEI/ALG-NPs 释放速率加快。

### 2.7　体外释放曲线的模型拟合

对“2.6”项下的药物释放曲线，分别采用零级释放模型、一级释放模型、Higuchi 模型、Hixcon-Crowell 模型、Ritger-Peppas 模型、Weibull 模型进

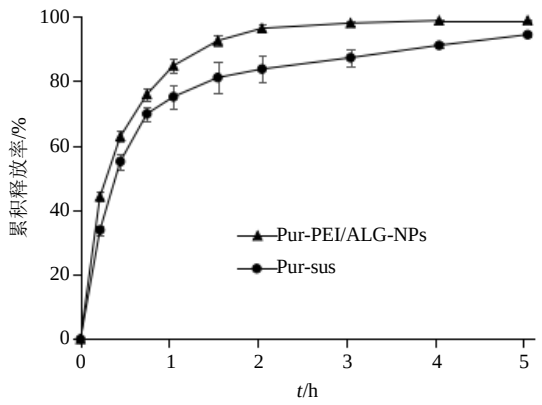



**图 3 Pur-PEI/ALG-NPs 与 Pur-sus 体外释放曲线 ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

**Fig. 3 *In vitro* release profile of Pur-PEI/ALG-NPs and Pur-sus solution ($\bar{x}\pm s$, $n$ = 3)**

行拟合，以相关系数（$r$）来判断拟合优度。由表 5 可知，Pur-PEI/ALG-NPs 和 Pur-sus 的体外释药行为均与 Weibull 模型比较接近。

## 3 讨论

目前，纳米制剂是广泛研究的局部眼用给药系统之一，其粒径小可减少对眼部的刺激，延缓药物释放，实现靶向给药[15]。由于角膜表皮细胞带负电荷，因此带正电荷的药物或载体容易黏附于眼表黏膜层。Pur-PEI/ALG-NPs 表面具有丰富的正电荷，其外层的 PEI 分子中的阳性氨壳与眼表黏膜阴性的唾液酸残基间发生静电吸附，能降低 Pur 在眼部的清除率，延长驻留时间。同时 PEI 具有强吸附性、细胞黏着力以及良好的质子缓冲能力[16]，在一定程度上可增加 Pur 在结膜囊内的稳定性，促进 Pur 的角膜渗透。

**表 5 体外释放曲线的拟合结果**

**Table 5 Mathematical models of *in vitro* release curves**

| 释药模型 | Pur-PEI/ALG-NPs | Pur-sus |
|---|---|---|
| 零级方程 | $Q$=8.756 7 $t$+65.761，$r$=0.770 1 | $Q$=9.326 6 $t$+55.654，$r$=0.812 5 |
| 一级方程 | ln(1−$Q$)=−0.812 6 $t$+3.662 5，$r$=0.948 8 | ln(1−$Q$)=−0.439 1 $t$+3.872 2，$r$=0.961 6 |
| Higuchi | $Q$=27.442 $t^{1/2}$+47.773，$r$=0.880 6 | $Q$=38.291 $t^{1/2}$+22.229，$r$=0.907 6 |
| Hixcon-Crowell | $(1-Q)^{1/3}$=−0.540 4 $t$+3.262 1，$r$=0.898 3 | $(1-Q)^{1/3}$=−0.389 6 $t$+3.572，$r$=0.922 0 |
| Ritger-Peppas | ln$Q$=0.244 8 ln$t$+4.320 6，$r$=0.931 6 | ln$Q$=0.289 7 ln$t$+4.182 8，$r$=0.928 9 |
| Weibull | ln[1/(1−$Q$)]=1.360 2 ln$t$+2.173 9，$r$=0.980 9 | ln[1/(1−$Q$)]=0.728 5 ln$t$+1.400 2，$r$=0.985 3 |

由于细胞毒性随着 PEI 相对分子质量的增大而增大，且带大量正电荷的 PEI 分子易被细胞内吞，进一步阻碍了药物转运。因此，本实验以低相对分子质量（$M_W$=600）PEI 为载体，并选用 ALG 作为交联剂，ALG 表面荷载大量的负电荷可屏蔽 PEI 表面的部分正电荷，从而降低细胞毒性[17]。

在采用自组装法制备 Pur-PEI/ALG-NPs 的过程中，ALG 的滴入速度过快，纳米粒容易团聚产生沉淀；搅拌时间太短，不利于纳米粒的形成；PEI 溶液的合适 pH 值为 5～6，过酸过碱均不利于纳米溶液的稳定。本实验 Pur-PEI/ALG-NPs 制备条件温和，操作简单，不添加任何有机试剂，给药方便，可提高患者用药的安全性和依从性，为临床研发 Pur 新型眼部给药系统提供了参考。

**参考文献**

[1] 邓新国, 胡世兴, 张清炯, 等. 葛根素腹腔注射在兔视网膜组织中的药动学研究 [J]. 中草药, 2004, 35(12): 1382-1384.

[2] 赵春颖, 侯丽红, 车慧欣. 葛根素滴眼液对原发性开角型青光眼视盘参数及抗氧化能力的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2015, 15(8): 1332-1334.

[3] 张环宇, 李大伟, 史彩虹. 葛根素的临床应用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(1): 75-78.

[4] Gaudana R, Jwala J, Boddu S H, *et al*. Recent perspec-tives in ocular drug delivery [J]. *Pharm Res*, 2009, 26(5): 1197-1216.

[5] 娄 杰, 贾云涛, 田 睿, 等. 眼用小栗碱白蛋白纳米粒温敏原位凝胶的制备及性质研究 [J]. 中草药, 2013, 44(3): 277-281.

[6] De La Fuente M, Csaba N, Garcia-Fuentes M, *et al*. Nanoparticles as protein and gene carriers to mucosal surfaces [J]. *Nanomedicine*, 2008, 3(6): 845-857.

[7] 兰小川, 陈 辉, 顾海鹰, 等. 环抱素 A 壳聚糖纳米微粒防治增生性玻璃体视网膜病变 [J]. 中华实验眼科杂志, 2007, 25(12): 946-949.

[8] Gaudana R, Ananthula H K, Parenky A, *et al*. Ocular drug delivery [J]. *AAPS J*, 2010, 12(3): 348-360.

[9] Mitra M, Kandalam M, Rangasamy J, *et al*. Novel

epithelial cell adhesion molecule antibody conjugated polyethyleneimine-capped gold nanoparticles for enhanced and targeted small interfering RNA delivery to retinoblastoma cells [J]. *Molecular Vision*, 2013, 19: 1029-1038.

[10] Peng C H, Cherng J Y, Chiou G Y, *et al*. Delivery of Oct4 and SirT1 with cationic polyurethanes-short branch PEI to aged retinal pigment epithelium [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(34): 9077-9088.

[11] 蒋家云, 邹孟达, 陈施瀚, 等. 聚乙烯亚胺修饰纳米金基因载体制备及体外实验研究 [J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(9): 921-925.

[12] 夏海建, 张振海, 蒋 俊, 等. 雷公藤红素环糊精与油自组装小珠载药系统的制备及其体外评价 [J]. 中草药, 2013, 44(19): 2672-2676.

[13] 谭静净, 程 岚, 李学涛. 中心组合设计-效应面法优化长春碱亲水基修饰阳离子脂质体的处方 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1742-1745.

[14] Nanjawade B K, Manvi F V, Manjappa A S. In situ-forming hydrogels for sustained ophthalmic drug delivery [J]. *J Controlled Release*, 2007, 122(2): 119-134.

[15] Reimondez-Troitiño S, Csaba N, Alonso M J, *et al*. Nanotherapies for the treatment of ocular diseases [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 95(Pt B): 279-293.

[16] 李经忠, 土青青, 曹雪涛. 新型非病毒载体聚乙烯亚胺体内应用的研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2004, 31(1): 34-37.

[17] 王海杰, 谭玉珍. 聚乙烯亚胺纳米粒递送 siRNA 的抗肿瘤生长作用 [J]. 解剖科学进展, 2015, 21(4): 401-404.