

肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的研究与应用☆

赵晓威

Research and application of liver targeting chitosan drug nanocarrier

Zhao Xiao-wei

Abstract

OBJECTIVE: To introduce the research and application of liver targeting chitosan drug nano-carrier system.

METHODS: Wanfang database were searched on computer to retrieve articles addressing the liver targeting chitosan drug nanocarrier, published between December 2002 and February 2010, using key words of "chitosan drug nanocarrier, liver target, research, application" in Chinese. Repeated study, normal review or Meta analysis were excluded. Eighteen literatures screened were included.

RESULTS: Chitosan nanoparticles are a natural non-toxic, non-viral drug carrier, have good biocompatibility and biodegradability can improve the stability of drugs, targeted release drugs, increase drug absorption, so as to play the role of controlled release and targeted therapy. Drug-loaded chitosan nanoparticles can be prepared by 8 methods, including ionic crosslinking method, precipitation method, ultrasonic emulsification method, microemulsion method, electrostatic spinning method, inverse suspension crosslinking method, reverse evaporation-short ultrasonic method, reduced amination. For liver tissue engineering such as liver transplantation and artificial liver, it can maintain and enhance the activity and function of liver cells, is conducive to the growth of liver cells; targeted release drugs at the tumor site in liver cancer treatment, effectively inhibit tumor cells and reduce toxicity.

CONCLUSION: The liver targeting chitosan drug nanocarrier is a safe and efficient gene targeting vector, but it needs to be further determined.

Xiyuan Hospital of
China Academy of
Traditional Chinese
Medicine, Beijing
100091, China

Zhao Xiao-wei☆,
Doctor, Associate
chief physician,
Xiyuan Hospital of
China Academy of
Traditional Chinese
Medicine, Beijing
100091, China
Weixiaozhao1603@
sina.com

Received: 2010-05-21
Accepted: 2010-06-25

Zhao XW. Research and application of liver targeting chitosan drug nanocarrier. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(38):7193-7196. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

目的: 阐述肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的研究和应用。

方法: 采用电子检索的方式, 在万方数据库中检索 2002-12/2010-02 有关肝靶向性壳聚糖基纳米的研究文章, 关键词为“壳聚糖基纳米载药体系, 肝靶向性, 研究, 应用”。排除重复研究、普通综述或 Meta 分析类文章, 筛选纳入 18 篇文献进行阐述。

结果: 壳聚糖纳米粒是一种天然无毒的非病毒药物载体, 有良好的生物相容性和生物可降解性, 可提高药物的稳定性, 可靶向释放药物, 增加药物的吸收等, 达到控释和靶向治疗的作用。载药壳聚糖纳米粒的制备有离子交联法、沉淀法、超声乳化法、反相微乳法、静电纺丝法、反相悬浮交联法、逆相蒸发-短时超声法、还原胺化法等 8 种不同方法。用于肝脏组织工程如肝移植、人工肝, 能维持和提高肝细胞活性和功能, 有利于肝细胞生长; 肝脏肿瘤治疗中使药物靶向释放于肿瘤部位, 更有效抑制肿瘤细胞、降低毒副作用等。

结论: 肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系是一种安全、高效的靶向性基因载体, 但它的研究还需不断深入。

关键词: 壳聚糖基纳米载药体系; 肝靶向性; 研究; 应用; 生物材料

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.38.040

赵晓威. 肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的研究与应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(38):7193-7196.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

近年来, 基因治疗肝病治疗作为一种新的方法被广泛应用。肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系是非病毒转基因载体, 避免了病毒性载体所致的免疫反应、病毒野生型突变及致癌效应, 受到人们重视。

壳聚糖是由甲壳素脱乙酰基后得到的一种天然无毒的高分子碱性氨基多糖, 具有良好的生物吸收性和相容性, 带正电荷, 具有独特的跨细胞膜能力。肿瘤细胞具有比正常细胞表

面更多的负电荷, 壳聚糖在酸性环境中选择性吸附肿瘤细胞表面并起电中和作用, 能直接抑制肿瘤细胞, 通过活化免疫系统抑制肿瘤细胞活性, 与现有的抗癌药物合用可增强抗癌效果。

肝靶向性壳聚糖纳米载药微粒由壳聚糖、靶向纳米载药体系制成, 能缓释、控释、靶向释放药物, 增加药物吸收和生物利用度、降低药物毒副作用等。因此, 高效、安全的肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的研究日益受到关注。本文主要阐述肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的研究和应用进展。

中国中医科学院西苑医院, 北京市 100091

赵晓威☆, 女, 1964年生, 湖南省益阳市人, 汉族, 1985年湖南中医药大学毕业, 博士, 副主任医师, 主要从事肝病临床与科研。
Weixiaozhao1603@sina.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225
(2010)38-07193-04

收稿日期: 2010-05-21
修回日期: 2010-06-25
(20100618005/GW·Y)

1 资料和方法

1.1 资料的纳入与排除标准

纳入标准：①肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的研究相关文献。②壳聚糖基纳米载药体系的研究相关文献。③肝靶向性壳聚糖基纳米载药体系的应用相关文献。

排除标准：重复研究或普通综述或Meta分析类文章。

1.2 资料提取策略

检索人相关内容：第一作者。

检索时间范围：2002-12/2010-02。

中文关键词：壳聚糖基纳米载药体系，肝靶向性，研究，应用。

检索数据库：万方数据库 (<http://www.wanfangdata.com.cn/>)。

2 结果

2.1 研究人群/对象 在检索到的相关文章中，主要为实验动物和细胞培养方面的研究，实验动物主要集中在大鼠、小鼠、小型猪等，细胞培养采用细胞有SD大鼠、Wistar大鼠、昆明种小鼠、Balb/c小鼠、小型猪肝细胞和人正常肝细胞LO2细胞、人肝癌细胞等。

2.2 结果分析

2.2.1 制备方法研究

8种制备研究概述：

作者与杂志	纳米材料	制备方法	实验和结果	结论
匡长春,等 《中国医院药学杂志》	去甲斑蝥素壳聚糖纳米粒	离子交联法	以纳米粒混悬液,于小鼠尾静脉给药,测得肝脏内药物浓度最高	甲斑蝥素纳米粒有较好的肝靶向性。
郭建平,等 《中国现代医学杂志》	壳聚糖寡核苷酸纳米粒	沉淀法	对肝肿瘤细胞处理后,此纳米粒作为反义寡核苷酸载体时,显著增强端粒酶活性,抑制肝脏肿瘤细胞生长	纳米粒能显著提高粒酶反义寡核苷酸对肿瘤细胞增殖的抑制作用
陈钟,等 《世界华人消化杂志》	聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子	超声乳化法	用聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子进行原代猪肝细胞培养。纳米培养组ALT含量低	聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子有助于肝细胞膜的修复
郭跃华,等 《中国普通外科杂志》	卡铂碳包铁纳米笼壳聚糖微球	反相微乳法	观察对人肝癌细胞体外增殖的影响。其具有长循环和肿瘤组织滞留潜能,磁靶向性强,可缓释药物	卡铂碳包铁纳米笼壳聚糖微球对人肝癌细胞增殖有明显抑制作用
褚薛慧,等 《中国生物医学工程学报》	壳聚糖纳米纤维电纺膜	静电纺丝法	大鼠肝细胞在壳聚糖纳米纤维电纺膜中培养,发现其能促进肝细胞黏附,有良好的生物相容性,促进肝细胞功能	壳聚糖纳米纤维电纺膜能促进肝细胞功能
张立国,等 《离子交换与吸附》	乳糖壳聚糖微载体	反相悬浮交联法	大鼠肝细胞培养显示乳糖修饰壳聚糖微载体有利于肝细胞的培养和细胞代谢活性的维持	乳糖修饰的壳聚糖微载体是一种优良的肝细胞培养支架
仵文英,等 《中国药学杂志》	乳糖化羧甲基壳聚糖苦参碱脂质体	逆相蒸发-短时超声法	包封率和渗漏率的测定结果说明,乳糖化羧甲基壳聚糖包覆苦参碱脂质体稳定性好。大鼠尾静脉注射给药,肝脏药物浓度高	乳糖化羧甲基壳聚糖包覆苦参碱脂质体说明肝靶向性良好
王学东,等 《天然产物研究与开发》	乳糖羧甲基壳聚糖纳米粒	还原胺化法	乳糖化羧甲基壳聚糖与真核细胞表达基因β-D-半乳糖苷酶报道基因复合物液小鼠尾静脉注射,DNA-Lac-CMCS复合物在肝组织中富集并在肝细胞中有效表达	乳糖化羧甲基壳聚糖是一种有效的肝靶向载体

离子交联法：有学者制备去甲斑蝥素纳米粒。将壳聚糖溶于醋酸溶液中，用氢氧化钠溶液调节pH值至5^[1]。磁力搅拌，将三聚磷酸钠TPP水溶液滴加入壳聚糖溶液中，通过阴阳离子的静电作用自发形成纳米粒，高速离心，收集沉淀物即成。以纳米粒混悬液，于小鼠尾静脉给药，测定血浆及各脏器在不同时间的药物浓度，肝脏内药物浓度最高。说明去甲斑蝥素纳米粒有较好的肝靶向性。

沉淀法：郭建平等^[2]以壳聚糖用醋酸溶解，滴加氨水使沉淀，冷冻干燥得到纯化的壳聚糖。后者溶解于醋酸溶液中，用氢氧化钠调pH至5.5。寡核苷酸溶解于Na₂SO₄溶液中，壳聚糖和寡核苷酸溶液预热至50~

55℃，混匀，室温静置，得到壳聚糖-寡核苷酸纳米粒。对肝肿瘤细胞培养后，检测反义核苷酸寡端粒酶活性，实验表明壳聚糖纳米载体聚糖纳米粒作为反义核苷酸的载体时，抑制肿瘤细胞生长作用更强，能显著增强端粒酶活性。

超声乳化法：陈钟等^[3]制备聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子。将聚乳酸二氯甲烷溶液与O-羧甲基溶液，超声、反应，蒸发完全后得到乳光较重的均匀悬浊液。将悬浊液先低速离心，取其上清液离心，得到白色沉淀，即为聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子。用聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子进行原代猪肝细胞培养，结果显

示, 纳米培养组ALT含量低于普通培养组($P < 0.05$)。表明纳米材料培养后肝细胞膜修复完整。

反相微乳法: 郭跃华等^[4]制备卡铂碳包铁纳米壳聚糖微球。取碳包铁(Fe@C)纳米磁粉, 浸入稀盐酸溶液中, 反应, 清洗, 磁分离, 冻干得Fe@C纳米壳。将Fe@C纳米壳在饱和卡铂水溶液中浸泡, 磁分离后加入到壳聚糖乙酸水溶液中, 再加入卡铂标准品, 混匀, 超声分散形成水相。溶解气溶胶OT的正庚烷为油相, 在超声和搅拌下, 将水相逐滴加入油相中, 形成微乳液; 向微乳液中加入交联剂(戊二醛溶液), 维持超声和搅拌, 交联固化; 丙酮、无水乙醇和蒸馏水各反复清洗, 冷冻干燥, 得卡铂碳包铁纳米壳聚糖微球。观察其对人肝癌细胞体外增殖的影响。发现其具有长循环和肿瘤组织滞留潜能, 磁靶向性强, 可缓释药物。说明卡铂碳包铁纳米壳聚糖微球对人肝癌细胞增殖有明显抑制作用。

静电纺丝法: 褚薛慧等^[5]采用静电纺丝的方法制备壳聚糖纳米纤维电纺膜。首先制备壳聚糖溶液, 壳聚糖与聚氧化乙烯粉末, 甲酸和无水乙醇混合液。在室温下配备质量分数为2.6%的溶液, 搅拌、溶解。将配备好的溶液装入20 g针头的玻璃注射器内, 在距针头10~20 cm处放置直径为24 mm的盖玻片收集纺丝。针头与玻片之间附加1.5 kV/cm的电场, 在微量注射泵的推动下, 壳聚糖溶液被均匀地喷射到盖玻片表面, 形成壳聚糖纳米纤维电纺膜。

肝细胞在壳聚糖纳米纤维电纺膜表面展示了良好的活性, 并能与支架材料紧密结合。说明壳聚糖纳米纤维电纺膜促进肝细胞黏附, 有良好的生物相容性, 促进肝细胞的功能。

反相悬浮交联法: 张立国等^[6]利用甲苯-四氯化碳作有机分散介质, 戊二醛作交联剂, 通过反相悬浮交联制备壳聚糖微载体。将壳聚糖溶于乙酸溶液, 制成壳聚糖溶胶。加入 $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_5$ 和 CCl_4 , 及司班80, 混匀, 搅拌, 将壳聚糖溶胶慢慢加入, 搅拌至壳聚糖溶胶均匀分散成合适大小的液滴后, 加入戊二醛溶液, 升温, 反应, 加入NaOH溶液, 调pH至9~10, 反应, 过滤, 洗涤, 得到黄棕色的壳聚糖微载体(CMs)。取CMs, 加入硼氢化钠还原。取还原后的CMs, 加入NaOH、环氧氯丙烷, 振荡反应, 洗涤, 用含有酚酞指示剂的硫代硫酸钠溶液检测至洗涤液不变色。环氧化CMs, 加入NaOH乳糖溶液, 醚基化反应即得乳糖的修饰壳聚糖微载体。

肝细胞在壳聚糖微载体上保持良好的球形状态。说明乳糖修饰壳聚糖微载体有利于肝细胞的培养和维持细胞代谢活性, 是一种优良的肝细胞培养支架。

逆相蒸发-短时超声法: 件文英等^[7]制备乳糖化羧甲基壳聚糖包覆苦参碱脂质体。先合成乳糖化羧甲基壳聚糖(Lac-CMCS): 将壳聚糖加NaOH溶液浸泡后加异丙醇, 滴加氯乙酸的异丙醇溶液, 反应3 h后停止。加水溶解

固体后用盐酸调pH值至7.0, 离心后取上清液加乙醇沉淀并抽滤, 洗涤、干燥, 得O-羧甲基壳聚糖。取O-羧甲基壳聚糖溶解到水和甲醇的混合溶剂中, 加入乳糖, 分次滴加NaOH溶液, 37 °C水浴下反应4 d。反应物用蒸馏水透析5 d。将透析内液加乙醇沉淀, 离心, 抽滤, 滤饼使用无水乙醇洗涤后过滤, 干燥后即得Lac-CMCS。Lac-CMCS包覆的苦参碱脂质体(LML)的制备: 称取卵磷脂、胆固醇, 加油酸适量, 溶于氯仿。另称取苦参碱加磷酸盐缓冲液溶解, 将上述油水两相混匀, 置超声仪中水浴超声乳化, 所得乳剂在旋转蒸发器上减压蒸除氯仿, 达到胶态后加磷酸盐缓冲液振荡洗脱胶态物质, 继续蒸发、短时超声分散, 得苦参碱脂质体。取脂质体, 搅拌下滴加Lac-CMCS的pH 7.0的磷酸盐缓冲液, 室温下包覆, 得LML。

包封率和渗漏率的测定结果说明, 乳糖化羧甲基壳聚糖包覆后脂质体的稳定性增加。

大鼠尾静脉注射给药后LML在肝脏AUG值相对于另两组具有显著性差异($P < 0.05$)。说明乳糖化羧甲基壳聚糖包覆的苦参碱脂质体LML可以进一步提高肝靶向性。体外释放试验说明, LML具有缓释效果。

还原胺化法: 王学东等^[8]制备乳糖化羧甲基壳聚糖。取羧甲基壳聚糖, 用pH=9的硼酸缓冲液搅拌溶解。加乳糖, 搅拌。加氰基硼氢化钠, 溶解、搅拌、反应, 40 h后取出。混合液用盐酸调节pH=8, 加入丙酮沉淀, 抽滤。沉淀用蒸馏水重新溶解后, 用丙酮二次沉淀, 沉淀依次用85%甲醇、无水甲醇, 无水乙醇洗涤, 抽干, 60 °C真空干燥, 研成粉末, 为乳糖化羧甲基壳聚糖。

乳糖化羧甲基壳聚糖(Lac-CMCS)与质粒DNA的复合物接种肝癌细胞HLE和肺癌细胞GLC-4进行培养, 去培养上清液, 用戊二醛固定, 加染色液染色, 显微镜观察细胞颜色。发现肝癌细胞HIE充分摄取DNA/Lac-CMCS复合物, 使复合的pCMVB基因在细胞中有效表达, 出现蓝色颗粒沉淀。显示乳糖化羧甲基壳聚糖(Lac-CMCS)与质粒DNA的复合物能够被肝细胞有效摄取。

DNA/Lac-CMCS复合物于小鼠尾静脉注射, 取各脏器切片, 染色, 检测 β -D-半乳糖苷酶在各脏器中的表达。显示DNA与Lac-CMCS形成复合物后能在肝组织中富集并在肝细胞中有效表达。故合成的乳糖化羧甲基壳聚糖具备肝靶向导向能力, 是一种有效的肝靶向载体。

2.2.2 在肝脏组织工程中的应用

用于肝脏组织工程: 有研究发现肝细胞在壳聚糖纳米材料表面培养时, 细胞逐渐形成了聚集生长^[9]。细胞的聚集生长能增加细胞之间的接触, 加强细胞间的信号传导, 促进细胞间的相互作用, 故能促进细胞的活性及功能。壳聚糖纳米是构建肝组织工程的良好候选材料。

有实验制得的载肝细胞生长因子的聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖(PLA-O-CMC)纳米粒子表面电位为较弱的正

电荷, 32.8 eV, 便于和带负电荷的肝细胞相接触实现药物的靶向治疗^[9]。对体外培养大鼠肝细胞活力的影响发现, 该纳米粒能持续地促进培养大鼠肝细胞的活力。此载体的应用可为肝细胞移植和生物人工肝提供大量高活力肝细胞。

有人用聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子对猪肝细胞进行了体外培养, 发现纳米培养组的肝细胞形成球形聚集体的时间明显缩短, 细胞形态好^[3]。经培养后肝细胞膜修复完整。说明纳米材料更有助于肝细胞膜的修复。其用于肝衰竭肝移植, 可维持和提高肝细胞活性和功能。

有研究显示, 壳聚糖纳米纤维电纺膜明显促进肝细胞黏附, 有良好的生物相容性, 维持细胞的功能表达^[10]。该材料有望用于改善生物反应器中的细胞活性和功能。

聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子和 I 型胶原结合可增强抑制移植肝细胞凋亡作用, 延长其生存时间, 是一种较理想的肝细胞三维立体培养支架^[11]。

乳糖修饰的壳聚糖微载体 (CMs) 上肝细胞的白蛋白分泌活性、葡萄糖代谢更高, 说明其有利于肝细胞培养和细胞活性的维持。将微载体培养与肝细胞聚集体的培养结合, 将为生物人工肝的设计和研制打下基础^[6]。

观察聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖(PLA-O-cMC)纳米粒子对腹腔内异种移植猪肝细胞凋亡相关蛋白 bcl-2、bax、Fas 和 p53 表达的影响。结果显示, 肝移植后 PLA-O-cMC 纳米粒子可通过下调凋亡蛋白 bax、p53 和 Fas 的表达, 上调 bcl-2 表达的作用, 来抑制移植肝细胞的凋亡; 而 PLA-O-cMC 纳米粒子和胶原凝胶联合使用上调 bcl-2 表达作用更强^[12]。

增强肝靶向药物释放: 实验表明卡铂碳包铁纳米壳聚糖微球磁靶向性强, 有效抑制肝癌细胞增殖。在肝脏肿瘤治疗中, 其靶向滞留于肿瘤区, 定向平稳释放药物杀伤肿瘤细胞, 提高疗效, 降低毒副作用^[4]。

有人将甘草酸表面修饰壳聚糖纳米粒处理肝实质细胞, 发现细胞转染率明显高于未修饰的壳聚糖纳米粒^[13]; 由于电荷作用, 甘草酸表面修饰壳聚糖纳米粒与肝实质细胞结合, 存在非特异性生物摄取。体外实验证实甘草酸表面修饰壳聚糖纳米粒兼具主动和被动寻靶能力。去甲斑蝥素纳米粒通过网状内皮系统吞噬作用实现肝脏被动靶向, 能提高药物疗效, 降低全身毒副作用^[14]。乳糖化羧甲基壳聚糖包覆的苦参碱脂质体可以提高肝靶向性^[7]。DNA 与乳糖化羧甲基壳聚糖 Lac-CMCS 形成复合物于体内实验证实, 能在肝组织中富集并在肝细胞中有效表达, 是一种有效的肝靶向载体^[8]。

2.3 样本量 在检索到的文章中, 动物实验中样本量最大的, 如 SD 大鼠, 240 只^[3]; 哺乳动物样本量最小, 如小型猪, 4 只^[3]。其他如昆明种小鼠 80 只^[1], SD 大鼠 10 只^[9], 小型猪 5 只^[3], 小型猪 5 只、SD 大鼠 123 只^[11], 小

型猪 5 只、SD 大鼠 160 只^[12]。

3 讨论

基因疗法有望为肝病治疗开辟一条新途径, 尚缺乏理想的靶向性基因载体。肝靶向性壳聚糖基纳米载体体系研究近年来虽有一些成果, 还需不断深入。

因壳聚糖的结构特点和药物本身性质, 载药壳聚糖纳米粒的制备有离子交联法^[1]、沉淀法^[2]、超声乳化法^[3]、反相微乳法^[4]、静电纺丝法^[5]、反相悬浮交联法^[6]、逆相蒸发-短时超声法^[7]、还原胺化法等不同^[8]。

壳聚糖纳米粒用于药物治疗领域, 用于基因、蛋白质、细胞因子等生物活性大分子药物的包载; 用于肝移植中提高和维持细胞的活性、功能, 抑制细胞凋亡; 人工肝中作为支架, 促进肝细胞附着; 肝脏肿瘤治疗中增强肝靶向性、抑制肿瘤细胞等。对壳聚糖纳米粒表面进行修饰、基因和壳聚糖纳米复合物, 更具靶向的选择性, 可能是医药研究未来趋势。肝脏肿瘤化疗靶向性差, 壳聚糖纳米粒将药物选择性地分布于肿瘤部位, 降低毒副作用, 提高药效, 将是肝脏肿瘤药物研究的热点^[15-18]。

4 参考文献

- [1] 王钦. 去甲斑蝥素 N-乳糖酰壳聚糖纳米粒的制备与性质研究[D]. 苏州大学, 2007.
- [2] 郭建平, 张涛. 壳聚糖纳米载体介导的端粒酶反义核苷酸对肝癌细胞的抑制作用[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(8): 1066-1068.
- [3] 陈钟, 戴新征, 杨欣荣, 等. 聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子的制备及其对培养猪肝细胞的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(17): 1669-1674.
- [4] 郭跃华, 李富荣, 桂玲, 等. C-Fe@CN-CN 对人肝癌细胞增殖的抑制作用[J]. 中国普通外科杂志, 2006, 15(5): 360-364.
- [5] 褚薛慧, 施晓雷, 冯章启, 等. 肝脏组织工程纳米纤维支架材料的比较研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2009, 28(3): 476-481.
- [6] 张立国, 潘继伦, 李结良, 等. 乳糖修饰壳聚糖微载体的制备及对培养肝细胞代谢活性的影响[J]. 离子交换与吸附, 2004, 20(3): 231-236.
- [7] 刘文英, 刘硕, 黄洁, 等. 乳糖化羧甲基壳聚糖包参碱脂质体在大鼠体内组织分布研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(6): 439-443.
- [8] 王学东, 曲春风, 苗乃法, 等. 羧甲基壳聚糖的肝靶向修饰及导向效果研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 600-602.
- [9] 李志峰, 陈钟, 常仁安, 等. 载肝细胞生长因子聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子制备、表征及其对培养大鼠肝细胞活力的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(32): 6251-6256.
- [10] 褚薛慧, 施晓雷, 顾劲扬, 等. 壳聚糖纳米纤维电纺膜体外对肝细胞作用的研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2010, 29(1): 144-149.
- [11] 陈钟, 杨欣荣, 戴新征. 聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子对异种移植猪肝细胞凋亡的抑制作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(31): 6178-6182.
- [12] 陈钟, 汤飞, 蔡鸿宇, 等. 聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米粒子对大鼠腹腔内异种移植猪肝细胞 bcl-2、bax、Fas 和 p53 表达的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25(7): 847.
- [13] 黄羽, 林爱华, 张娴, 等. 甘草酸表面修饰壳聚糖纳米粒体外对肝实质细胞的靶向结合作用[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(6): 495-498.
- [14] 匡长春, 何文, 罗顺德, 等. 去甲斑蝥素壳聚糖纳米粒在小鼠体内分布及肝靶向作用[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(6): 527-530.
- [15] 张玮. 去甲斑蝥素低分子量壳聚糖纳米粒研究[D]. 苏州大学, 2008.
- [16] 姚倩. 双配体修饰的壳聚糖纳米粒肝癌细胞主动靶向给药系统的研究[D]. 四川大学, 2006.
- [17] 戴新征. 制备聚乳酸-O-羧甲基壳聚糖纳米材料应用于体外猪肝细胞培养的实验研究[D]. 南通大学, 2006.
- [18] 白媛媛, 吴刚, 张海玲, 等. 壳聚糖基因纳米粒子诱导 L02 细胞凋亡的机制研究[J]. 国际生物医学工程杂志, 2009, 32(2): 78-80, 81.