

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.17.009

载 siRNA 的 PLGA - b - PEG 纳米粒制备及初步体外评价*

纪刚剑¹, 林雯^{2Δ}, 史琼枝³, 李银科³

(1. 湖北省武汉市第三医院·武汉大学附属同仁医院, 湖北 武汉 430060; 2. 黄石爱康医院, 湖北 黄石 435000; 3. 中国人民解放军中部战区总医院, 湖北 武汉 430070)

摘要:目的 探讨载小干扰核糖核酸(siRNA)的聚乳酸-羟基乙酸共聚物-b-聚乙二醇(PLGA-b-PEG)纳米粒的制备工艺,并对其进行表征及初步体外评价。方法 采用复乳法制备含药纳米粒。通过透射电子显微镜、原子力显微镜观察形态,Zeta 电位/粒度分析仪测定 Zeta 电位及其粒径,计算包封率,考察稳定性、体外释药,并进行细胞增殖检测。结果 制备的纳米粒呈球形,粒径均匀,平均粒径为 (101.5 ± 6.3) nm, Zeta 电位为 $-(31.7 \pm 4.5)$ mV,包封率为 $(57.6 \pm 4.8)\%$;在 4℃条件下放置 30 d,粒径和 Zeta 电位分别为 (103.3 ± 5.7) nm 和 $-(32.5 \pm 5.2)$ mV;纳米粒体外可持续释药 48 h 以上,且超声可加速药物释放;siRNA 纳米粒具有较强的肿瘤细胞活性抑制作用。结论 制备的纳米粒理化特性良好,性质稳定,具有一定的超声刺激释药特性。

关键词: 聚乳酸-羟基乙酸共聚物-b-聚乙二醇;纳米粒;超声;小干扰核糖核酸

中图分类号:R979.1;TQ460.6

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)17-0033-05

Preparation and *in Vitro* Evaluation of PLGA - b - PEG Nanoparticles Loading siRNA

Ji Gangjian¹, Lin Wen², Shi Qiongzhi³, Li Yinke³

(1. Wuhan Third Hospital · Tongren Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China 430060; 2. Huangshi Love & Health Hospital, Huangshi, Hubei, China 435000; 3. General Hospital of Central Theater Command of Chinese PLA, Wuhan, Hubei, China 430070)

Abstract: Objective To investigate the preparation and characterization of poly (lactic - co - glycolic acid) - b - polyethylene glycol

*基金项目:湖北省自然科学基金[2019CFC886];湖北省科技计划项目[2020CFB569];湖北省卫生和计划生育委员会 2018 年联合基金[WJ2018H0116]。

第一作者:纪刚剑,男,硕士研究生,主管药师,研究方向为纳米制剂,(电话)027-68894880(电子信箱)731438000@qq.com。

Δ通信作者:林雯,女,硕士研究生,副主任检验技师,研究方向为基因检测与分析,(电话)0714-6230582(电子信箱)3yue12@sina.com。

综上所述,FMEA 能降低医院药事管理中药品安全事故的发生率,提高患者的服务满意度,提升药品管理质量,降低工作风险值。

参考文献

- [1] 荆自伟,裴健颖,杜书章. 住院药房的药品质量管理与用药安全[J]. 中国医药导报,2019,16(2):174-177.
- [2] 张明珠,宋金方,杨静. 等. 我国不同地区重点监控合理用药药品与管理政策分析[J]. 临床药物治疗杂志,2021,19(2):31-35.
- [3] 延海芳. 我院重点监控药品的药事管理模式探索[J]. 中国药物与临床,2021,21(13):2366-2367.
- [4] 陈国平,黄谷. 药房药事质量与安全控制指标的构建及应用效果分析[J]. 中国药业,2020,29(16):27-29.
- [5] 杨丽,陈玉烛,车良菊,等. 失效模式与效应分析对泌尿外科留置尿管患者尿路感染的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2018,28(4):610-613.
- [6] 张霞,张晓,程大鹏. 失效模式与效应分析模式的护理干预对声带息肉术后患者生活质量及护理满意度的影响[J]. 中国药物与临床,2018,18(4):667-669.
- [7] 陈香凤,朱倩兰,黄慧,等. 医疗失效模式与效应分析在手术交接流程管理中的应用[J]. 重庆医学,2018,47(1):136-139.
- [8] 李晓娥,郑龙,郭伦锋. 失效模式和影响分析法及 PDCA 循环法在我院西药管理中应用分析[J]. 山西医药杂志,

2019,48(9):1033.

- [9] BONFANT G, BELFANTI P, PATEMOSTER G, et al. Risk analysis with failure mode and effect analysis (FMEA) model in a dialysis unit[J]. J Nephrol, 2010, 3(1): 111-118.
- [10] 邱婷婷,张萌萌,孔宪伟,等. 运用医疗失效模式与效应分析方法预防分装药品错误的发生[J]. 中国药学杂志, 2018,53(13):1137-1139.
- [11] 卢迎,周琴,王立娜,等. 失效模式与效应分析在特重度烧伤患者肢体体位摆放护理中的应用效果[J]. 中华烧伤杂志,2021,37(11):1078-1084.
- [12] 牟菲,樊婷婷,王明明,等. 失效模式与效应分析在医院用药风险管控中的应用及局限性[J]. 医药导报,2021,40(11): 1598-1603.
- [13] 刘朝芹,段小妹,刘中媛,等. 医疗失效模式与效应分析在住院患者安全用药中的运用[J]. 中国药物与临床,2020, 20(11):1895-1897.
- [14] 冯晶晶,徐仲,蒋色丹. 输液流程中失效模式与效应分析对门诊输液安全管理效果的影响[J]. 中国药物与临床, 2019,19(11):1915-1917.
- [15] 袁海玲,韩文,李坤,等. 失效模式与效应分析在住院患者药物医嘱流程风险管理中的应用与评价[J]. 中国医院药学杂志,2021,41(23):2490-2494.

(收稿日期:2021-09-13;修回日期:2022-02-22)

(PLGA - b - PEG) nanoparticles loading the small interfering RNA (siRNA), and to evaluate them preliminarily *in vitro*.

Methods The nanoparticles containing drugs were prepared by the double emulsion method. The morphology of nanoparticles was observed by the transmission electron microscope (TEM) and the atomic force microscope (AFM). The Zeta potential and particle size of nanoparticles were measured by the Zeta potential / particle size analyzer. The entrapment efficiency of nanoparticles was calculated. The stability and *in vitro* drug release of nanoparticles were investigated. The cell proliferation was tested. **Results** The prepared nanoparticles were spherical and uniform with the average particle size of (101.5 ± 6.3) nm, the Zeta potential of $-(31.7 \pm 4.5)$ mV and the entrapment efficiency of $(57.6 \pm 4.8)\%$. Placed at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 d, the particle size and Zeta potential of nanoparticles were (103.3 ± 5.7) nm and $-(32.5 \pm 5.2)$ mV, respectively. The nanoparticles could release drugs constantly for more than 48 h *in vitro*, and the ultrasound could stimulate the drug release. The nanoparticles loading the siRNA had a strong inhibitory effect on tumor cell viability. **Conclusion** The prepared nanoparticles have good physical and chemical characteristics, stable properties, and a certain characteristic of drug release stimulated by the ultrasound.

Key words: PLGA - b - PEG; nanoparticle; ultrasound; siRNA

全球第1个核糖核酸(RNA)干扰药物 patisiran(商品名 Onpattro)于2018年10月8日获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市^[1],小干扰核糖核酸(siRNA)目前已成为生物技术药物研究领域的研究热点。但裸露的siRNA易被血清中的核酸酶降解,且易被肾脏快速清除^[2]。siRNA相对分子质量较大(约14 000),所携带的负电荷制约其穿越体内多种生物屏障^[3]。因此,实现siRNA的有效递送须构建高效的载体递送系统。原癌基因c - myc的活性改变是启动和维持细胞癌变状态的重要因素,在体内正常环境下的表达是被严格控制的。研究表明,抑制c - myc基因可产生显著的抗癌效果。针对性抑制c - myc基因的siRNA应用前景极好^[4]。微泡与超声技术相结合可提供一种非侵入式的药物靶向递送方法,通过增加肿瘤部位的血管通透性而提高药物载体(微泡)的递送效率^[5]。但微泡被超声激发破坏后,其中包载的药物瞬间释放完毕,难以实现药物在靶部位的持续释放^[6]。聚乳酸-羟基乙酸共聚物-b-聚乙二醇(PLGA - b - PEG)是由聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)和聚乙二醇(PEG)构成的双单元共聚物,具有两亲性、生物相容易降解性、长循环性等特点。本研究中制备以PLGA - b - PEG为基质的纳米粒,包载可抑制c - myc基因的siRNA(5' - AACGUUAGCUUCACCAACAUU - 3')作为模型药物^[7]。将该纳米粒与微泡一同注入体内,纳米粒和微泡将随着血液循环流经肿瘤部位,在体外的局部定点超声作用下,微泡发生的空化作用暂时打开肿瘤血管壁屏障,纳米粒借机进入肿瘤部位释放包载的siRNA;持续的局部超声刺激可加快药物在病灶部位的释放速率,实现深部位肿瘤的siRNA定向、定速释放。研究表明,在超声波刺激诱导微泡的惯性空化作用下,肿瘤局部的血管通透性增加,搭载siRNA的PLGA - b - PEG纳米粒更易透过血管壁,进入肿瘤部位释药^[8],可增强肿瘤部位对纳米粒子的实体瘤高通透性和滞留效应(EPR),从而实现药物的靶向递送。目前,关于c - myc基因的siRNA递送方案尚未见文献报

道。为此,本研究中探讨了载siRNA的PLGA - b - PEG纳米粒的制备工艺,并对其进行初步体外评价,以期作为c - myc基因表达异常的相关实体瘤的基因治疗提供参考。现报道如下。

1 仪器、试药与细胞

1.1 仪器

RE52CS型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);3K15型冷冻离心机(美国Sigma公司);AH100D型脂质体挤出器(加拿大Avestin公司);JY92 - II D型细胞超声破碎仪(宁波新芝生物科技有限公司);7500型透射电子显微镜(日本日立公司);NanoWizarc®型原子力显微镜(德国JPK Instruments AG公司);NICOMP 380ZLS型Zeta电位/粒度分析仪(美国Santa Barbara公司);RF - 5301型荧光分光光度计(日本岛津公司);Bio - rad680型酶标仪(美国伯乐公司);Intelect® 2776型超声波治疗仪(美国Chattanooga公司,频率为1 MHz,功率为4.5 W)。

1.2 试药

PLGA - b - PEG(LA / GA = 50 / 50,相对分子质量为5 000,西安瑞喜生物科技有限公司,批号为BV2032);siRNA和FAM - siRNA(上海吉玛制药技术有限公司,批号均为20160613);胎牛血清(FBS,浙江天杭生物科技股份有限公司,批号为20170118);RPMI - 1640培养基(批号为8119064),DMEM培养基(批号为8117167),均购于美国Gibco公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT,美国Sigma公司,批号为M - 2128);其余试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 细胞

人乳腺癌细胞MCF - 7与结肠癌细胞HT - 29由军事科学院军事医学研究院惠赠,分别传代于第3代、第4代。

2 方法与结果

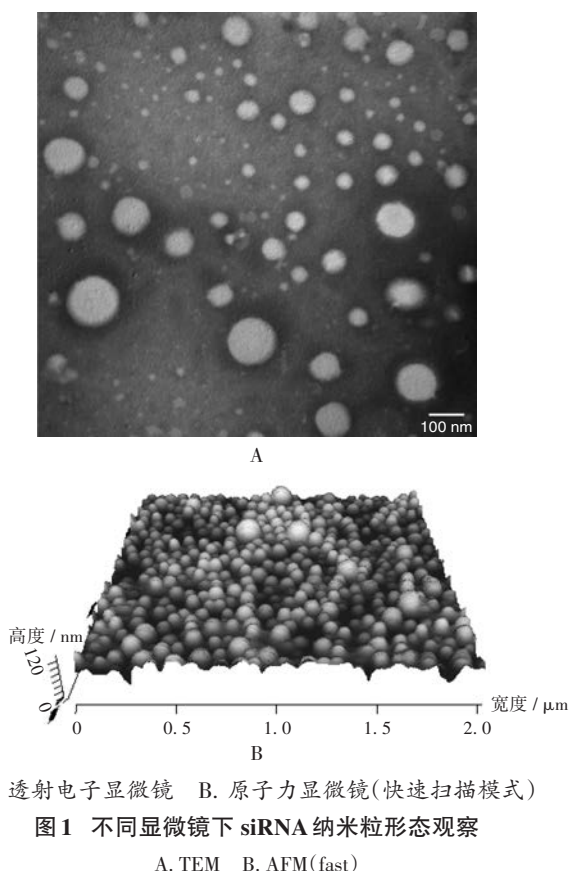
2.1 纳米粒制备

采用复乳法制备纳米粒^[6]。取PLGA - b - PEG 100 mg,精密称定,置30 mL烧杯中,加入10 mL二氯甲烷(含

3% 司盘-80 (m/V) 溶解基质材料, 磁力搅拌, 缓慢滴加 2 mL siRNA 液 [$2 \mu\text{mol}/\text{mL}$, 使用前 15 min 配制, 由经焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理的含亚精胺水溶液配制, 氮磷比为 15:1], 冰浴条件下超声乳化 (功率为 30 W, 工作 2 s, 停止 2 s) 120 s 制备初乳; 将初乳倒入 60 mL 1% 吐温-80 (m/V) 水溶液中, 冰浴条件下超声乳化 (功率为 100 W, 工作 2 s, 停止 2 s) 120 s 制备复乳; 磁力搅拌 4 h, 挥尽有机溶剂, 固化, $0.45 \mu\text{m}$ 聚碳酸酯膜滤过, 超滤管 (截留相对分子质量 100 000) 离心 ($3\,000\text{ g}$) 过滤纯化, 经 DEPC 处理的纯化水洗涤 3 遍, 所得混悬液密封储存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。将 siRNA 液换成 FAM-siRNA 液, 同法制备 FAM-siRNA 纳米粒。

2.2 理化表征

形态: 分别采用透射电子显微镜和原子力显微镜对所制备的 siRNA 纳米粒进行形态观察^[7]。取少量纳米粒样品, 经蒸馏水适当稀释, 滴加于电镜专用样品铜网, 1% 磷钨酸染色, 自然干燥, 采用透射电子显微镜进行形态观察。另取纳米粒样品少量, 用蒸馏水稀释, 滴加于云母片, 自然干燥, 采用原子力显微镜进行形态观察。由图 1 可知, 制备的载药纳米粒基本形态均匀, 外形为球形, 粒子直径为 100 nm。



A. 透射电子显微镜 B. 原子力显微镜 (快速扫描模式)

图 1 不同显微镜下 siRNA 纳米粒形态观察

A. TEM B. AFM (fast)

Fig. 1 Morphological observation of nanoparticles loading the siRNA with different microscopes

粒径分布和 Zeta 电位: 采用 Zeta 电位 / 粒度分析仪

测定。仪器参数设置, 激光扫描波长 639 nm, 入射光与散射光的夹角 90° , 测定温度 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。由图 2 可知, 所制备纳米粒的平均粒径为 $(101.5 \pm 6.3)\text{ nm}$, 多分散系数 (PDI) 为 0.095 ± 0.008 , Zeta 电位为 $-(31.7 \pm 4.5)\text{ mV}$ 。粒径仪测定的粒径结果与透射电子显微镜、原子力显微镜的结果一致。

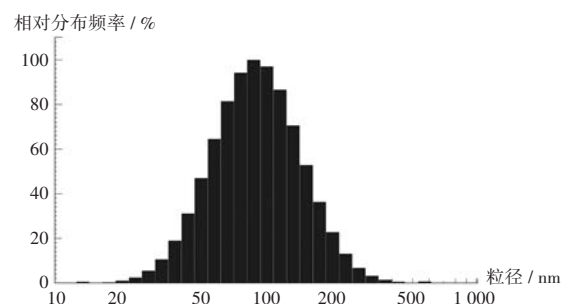


图 2 siRNA 纳米粒粒径分布

Fig. 2 Particle size distribution of nanoparticles loading the siRNA

包封率: 用 TE 缓冲液 [$10\text{ mmol}/\text{L}$ Tris-HCl ($\text{pH } 8.0$), $1\text{ mmol}/\text{L}$ EDTA] 配制系列 FAM-siRNA 标准溶液 (质量浓度为 $0.03 \sim 0.27 \mu\text{g}/\text{mL}$), 采用荧光分光光度法进行测定, 设置仪器参数 E_x/E_m 为 $490/515\text{ nm}$ ^[9], 以荧光强度 (F) 对样品浓度 (C) 进行线性回归, 得回归方程 $F = 0.449\,11\,C + 0.396\,34$ ($R^2 = 0.999\,7$)。结果表明, FAM-siRNA 浓度在 $2 \sim 20\text{ nmol}/\text{L}$ 范围内与荧光强度线性关系良好。冷冻干燥纳米粒样品混悬液, 精密称定, 加入乙腈溶解, TE 缓冲液稀释, 测定荧光强度, 代入回归方程, 计算总体载药量 ($L_{\text{总}}$); 用超滤管 (截留相对分子质量 100 000) 离心 ($3\,000\text{ g}$) 分离纳米粒悬液, 测定游离的药物量 ($L_{\text{游}}$), 计算纳米粒的包封率。包封率 = $(L_{\text{总}} - L_{\text{游}}) / L_{\text{总}} \times 100\%$ 。结果 FAM-siRNA 纳米粒的包封率为 $(57.6 \pm 4.8)\%$ 。

2.3 稳定性考察

取 FAM-siRNA 纳米粒样品悬液 0.5 mL , 置 10 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, $\text{pH } 7.4$) 中, 混合, 密封, 置 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 第 0 天和制备后第 30 天取样, 测定粒径、电位和包封率, 考察 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下的制剂稳定性^[9]。结果在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下放置 30 d, 纳米粒的粒径为 $(103.3 \pm 5.7)\text{ nm}$, PDI 为 0.097 ± 0.009 , Zeta 电位为 $-(32.5 \pm 5.2)\text{ mV}$, 包封率为 $(55.2 \pm 5.7)\%$; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下第 0 天, 粒径为 $(101.5 \pm 6.3)\text{ nm}$, PDI 为 0.095 ± 0.008 , Zeta 电位为 $-(31.7 \pm 4.5)\text{ mV}$, 包封率为 $(57.6 \pm 4.8)\%$ 。可见, 第 0 天与第 30 天测定结果基本一致, 表明 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下纳米粒在 PBS 中的稳定性良好。

2.4 体外释药考察

采用透析袋法考察。精密量取样品悬液 1.0 mL , 置透析袋 (截留相对分子质量 100 000) 中, 两端夹紧, 置 100 mL PBS ($\text{pH } 7.4$) 中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床 (转速为 $75\text{ r}/\text{min}$)

振摇。平行配制12份,分为超声组 and 未超声组。超声组在1 h时利用Intelect® 2776型超声波治疗仪超声(频率为1 MHz,功率为1 W/cm²)处理20 min。分别于0,1,2,4,6,8,12,24,48 h时取样,同时补加释放介质^[9],参照包封率测定项下测定释放的FAM-siRNA浓度,计算累积释放率,绘制释药曲线。由图3可知,纳米粒在体外模拟条件下释药平稳、持续。前24 h的累积释放量为载药量的65%~75%,余下部分于后续24 h内基本释放完毕。超声组FAM-siRNA于处理后2 h的累积释放量较未超声组高10%,表明制备的纳米粒具有一定的超声刺激释药特性,结合声敏微泡可能促进在靶部位的释药。

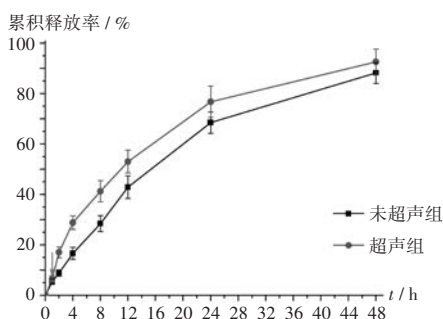


图3 FAM-siRNA纳米粒的体外释药曲线

Fig. 3 Profiles of drug release *in vitro* of FAM-siRNA nanoparticles

2.5 MTT 法检测载体对细胞增殖的影响

将MCF-7与HT-29细胞以 1.0×10^4 个/孔的密度分别接种于48孔板中,37℃及5% CO₂的培养箱中培养24 h^[10-11]。分别设立空白对照组(Blank)、超声空白对照组(Blank + US)、siRNA组(siRNA)、空白纳米粒组(Blank NP)、siRNA纳米粒组(siRNA NP)、siRNA纳米粒超声组(siRNA NP + US)。加样体积为25 μL,含药组的每孔siRNA浓度为25 nmol/L。超声处理(功率为1 W/cm²,频率为1 MHz)siRNA NP + US。加样后继续培养60 h,弃去原培养液,加入培养液[含20 μL MTT (5 mg/mL)]200 μL培养4 h,弃去培养液,加入200 μL二甲基亚砷(DMSO)溶解,采用酶标仪于540 nm波长处测定吸光度,计算细胞存活率。由图4可知,载药纳米粒组(siRNA NP, siRNA NP + US)与其他组(Blank, Blank + US, siRNA, Blank NP)之间的(MCF-7, HT-29)细胞存活率有显著差异($P < 0.05$);载药纳米粒组和其他组(MCF-7, HT-29)组内无显著差异($P > 0.05$)。从趋势上看,siRNA的存活率略低于Blank, siRNA NP和siRNA NP + US均低于siRNA。

3 讨论

纳米粒的基质材料PLGA-b-PEG具有两亲性,而siRNA亲水性强,难以直接包裹进入纳米粒的内部疏水区域,故本研究中采用复乳法制备纳米粒,以提高药

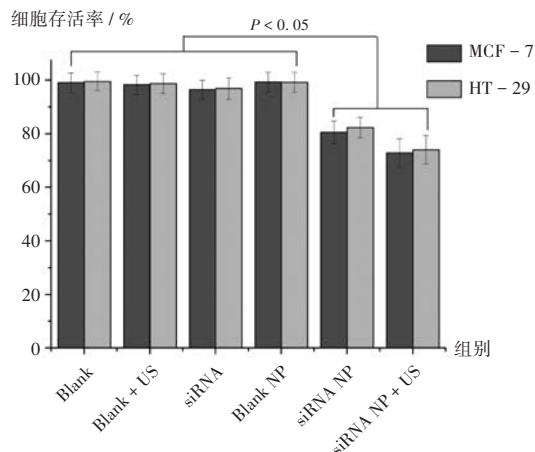


图4 体外细胞活性($n=6$)

Fig. 4 Cell viability *in vitro* ($n=6$)

物包封率。处方中采用了2种乳化剂,根据乳化剂的亲水/亲油平衡系数(*HLB*),亲油性的司盘80(*HLB* = 4.3)用于稳定初乳W/O,亲水性的吐温80(*HLB* = 15.0)用于复乳W/O/W的稳定^[12-13]。为了提高siRNA的稳定性和包封率,处方中的siRNA先用带正电的亚精胺中和,再包载入纳米粒,将减少乳化超声过程中产生的热量对siRNA的破坏,于冰浴条件下超声乳化吸收多余热量^[14-16]。此外,为减少环境中核酸酶对药物的降解作用,使用前均用RNA酶灭活剂DEPC对试验器具进行预处理^[9]。

考虑缩短制备工艺的过滤时间,本研究中采用0.45 μm滤膜进行初滤,超滤管进行纳米粒的过滤纯化,未采用脂质体制备中常用的100~200 nm滤膜进行过滤。纳米粒的刚性比脂质体大,过膜阻力大于脂质体,故采用预过滤后再超滤。粒径100 nm的纳米粒常用于体内药物的靶向递送^[17-19],故选择纳米粒的粒径为100 nm。试验制备的空白纳米粒的Zeta电位为-22 mV,而含siRNA的纳米粒的Zeta电位为-31 mV,这可能与部分未包封的siRNA吸附在纳米粒表面有关^[20]。由于基质材料PLGA-b-PEG和模型药物均带负电,根据同种电荷相斥的原理,可能导致siRNA药物在PLGA-b-PEG材料中的包封率较低。

由于目前直接测定样品中siRNA含量的方法较复杂,本研究中采用标记后的FAM-siRNA代替siRNA进行包封率和释放度的考察。但这种荧光标记的siRNA可能并不能完全反映实际的siRNA情况,最终应以凝胶电泳法测定结果为准^[21]。由图3可知,siRNA的释放速率前快后慢,可能与在纳米粒内部的药物需通过一段时间的扩散才能释放到粒子表面有关。在超声作用下,超声组FAM-siRNA于处理后2 h的累积释放率较未超声组高10%,提示超声作用有助于药物释放。本研究中制备的纳米粒在超声作用下可加快药物释放,且具有

缓释效果,可确保载体在进入位点后持续释药一段时间,延长药物的靶向治疗效果。

由图4可知,超声作用、空白载体与游离的siRNA几乎均不影响MCF-7和HT-29肿瘤细胞的活性,游离的siRNA对2种肿瘤细胞存在一定抑制作用,但无统计学差异。可能与游离的siRNA在培养基中易被降解,且穿透细胞膜的能力低有关。载有siRNA的纳米粒可被细胞摄入,显现出较强的细胞抑制作用。在超声波作用下,siRNA NP + US显现出较强的肿瘤细胞活性抑制作用,这可能与超声波可临时打开细胞膜屏障有关^[22]。此外,预试验中,细胞培养48 h时各组间的差异无统计学意义,而培养60 h才表现出显著差异,提示细胞培养时长对结果有很大影响。

本研究中意图构建的siRNA递送策略是通过超声刺激肿瘤局部的声敏微泡产生空化作用而提高肿瘤部位的血管通透性,进而提高纳米粒在肿瘤部位的EPR效应而进入靶部位释放siRNA,涉及超声波功率、频率、作用时长及微泡的理化特性等因素。本研究结果仅限于载体的制备方法和初步的体外评价,后续研究将作深入探讨。

综上所述,PLGA-b-PEG包裹的siRNA纳米粒具有超声刺激靶向释药特性,在siRNA肿瘤靶向给药应用方面具有较好的潜力。

参考文献

- [1] WOOD H. FDA approves patisiran to treat hereditary transthyretin amyloidosis[J]. Nat Rev Neurol, 2018, 14(10): 570.
- [2] SINGH A, TRIVEDI P, JAIN NK. Advances in siRNA delivery in cancer therapy[J]. Art Cells Nanomed Biotech, 2018, 46(2): 274 - 283.
- [3] AKHTAR S, BENTER I. Toxicogenomics of non - viral drug delivery systems for RNAi: Potential impact on siRNA - mediated gene silencing activity and specificity[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59(2/3): 164 - 182.
- [4] HABIB S, ARIATTI M, SINGH M. Anti - c - myc RNAi - Based Onconantherapeutics[J]. Biomedicines, 2020, 8(12): 612.
- [5] SOMAGLINO L, MOUSNIER L, GIRON A, et al. In vitro evaluation of polymeric nanoparticles with a fluorine core for drug delivery triggered by focused ultrasound[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2021, 200(1): 111561.
- [6] DI IANNI T, BOSE RJC, SUKUMAR UK, et al. Ultrasound / microbubble - mediated targeted delivery of anticancer microRNA - loaded nanoparticles to deep tissues in pigs [J]. J Control Release, 2019, 309: 1 - 10.
- [7] 林 雯, 李银科, 史琼枝, 等. YSA 肽修饰的声敏脂质体制备与表征[J]. 中国药师, 2019, 22(2): 222 - 225.
- [8] CHOWDHURY SM, LEE T, BACHAWAL SV, et al. Longitudinal assessment of ultrasound - guided complementary microRNA therapy of hepatocellular carcinoma [J]. Journal of Controlled Release, 2018, 281: 19 - 28.
- [9] YANG YF, XIE XY, XU XQ, et al. Thermal and magnetic dual - responsive liposomes with a cell - penetrating peptide - siRNA conjugate for enhanced and targeted cancer therapy[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2016, 146: 607 - 615.
- [10] HABIB S, DANIELS A, ARIATTI M, et al. Anti - c - myc cholesterol based lipoplexes as onco - nanotherapeutic agents in vitro[J]. F1000Res, 2020, 9: 770.
- [11] 熊晓妹, 明小芳, 桂 春, 等. 雄黄对人乳腺癌细胞 MCF - 7 增殖及凋亡的影响[J]. 中国药师, 2019, 22(8): 1392 - 1395.
- [12] DEVULAPALLY R, SEKAR NM, SEKAR TV, et al. Polymer nanoparticles mediated codelivery of anti miR - 10b and anti miR - 21 for achieving triple negative breast cancer therapy[J]. ACS Nano, 2015, 9(3): 2290 - 2302.
- [13] MASHHADIAN A, AFJOUH H, SHAMLOO A. An integrative method to increase the reliability of conventional double emulsion method[J]. Anal Chim Acta, 2022, 1197: 339523.
- [14] SAW PE, SONG EW. siRNA therapeutics: a clinical reality[J]. Sci China Life Sci, 2020, 63(4): 485 - 500.
- [15] DONG Y, SIEGWART DJ, ANDERSON DG. Strategies, design, and chemistry in siRNA delivery systems[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2019, 144: 133 - 147.
- [16] MAININI F, ECCLES MR. Lipid and Polymer - Based Nanoparticle siRNA Delivery Systems for Cancer Therapy[J]. Molecules, 2020, 25(11): 2692.
- [17] CHEN YY, GUO MF, QU DF, et al. Furin - responsive triterpene - based liposomal complex enhances anticervical cancer therapy through size modulation[J]. Drug Deliv, 2020, 27(1): 1608 - 1624.
- [18] JIANG YF, LIU Y, FANG SY, et al. Gold Nanoshells Coated 5 - Aminolevulinic Liposomes for Photothermal - Photodynamic Antitumor Therapy[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2020, 20(1): 1 - 14.
- [19] 陈 翔, 刘 耀, 倪 睿, 等. 负载聚六亚甲基双胍丝素蛋白纳米粒子抗菌活性及释放性能评价[J]. 中国药业, 2022, 31(5): 41 - 45.
- [20] SANIEE F, RAVARI NS, GOODARZI N, et al. Glutamate - urea - based PSMA - targeted PLGA nanoparticles for prostate cancer delivery of docetaxel [J]. Pharm Dev Technol, 2021, 26(4): 381 - 389.
- [21] YIN F, YANG CB, WANG QQ, et al. A Light - Driven Therapy of Pancreatic Adenocarcinoma Using Gold Nanorods - Based Nanocarriers for Co - Delivery of Doxorubicin and siRNA[J]. Theranostics, 2015, 5(8): 818 - 833.
- [22] SEAH BC, TEO BM. Recent advances in ultrasound - based transdermal drug delivery[J]. Int J Nanomedicine, 2018, 13: 7749 - 7763.

(收稿日期: 2021 - 12 - 08; 修回日期: 2022 - 04 - 10)