

## 壳聚糖纳米粒表面游离氨基与纳米粒特性研究

林爱华<sup>1,2</sup>, 刘奕明<sup>1</sup>, 平其能<sup>2\*</sup>

(1. 广州中医药大学 附属广东省中医院, 广东 广州 510120; 2. 中国药科大学 药学院, 江苏 南京 210009)

**摘要:** 为研究对三聚磷酸钠 (TPP)交联的壳聚糖纳米粒的表面游离氨基与纳米粒的性质之间的关联性,采用胶体滴定法测定壳聚糖纳米粒表面氨基游离率,考察表面游离氨基的数量及离解程度对纳米粒粒径、电位、形态及对药物包封率和体外释药特性的影响,并阐述这种变化机制。结果表明,随 TPP浓度增加,表面游离氨基逐步减少,在一定 TPP浓度范围内,纳米粒粒径减小,表面 zeta电位降低,稳定性也随之下降,粒子易聚集,释药速度和程度也随之降低,但药物包封率未受到影响,随着 pH升高,表面游离氨基离解程度降低,纳米粒粒径亦随之减小,表面 zeta电位降低。酸性介质提高纳米粒的释药速度和程度,在中性和碱性介质中纳米粒的释药速度和程度明显降低。交联程度和 pH影响表面游离氨基的数量或离解程度,进而影响纳米粒的体积相转变(溶胀/收缩过程)等重要性质。表面游离氨基与纳米粒性质间有密切的联系。

**关键词:** 壳聚糖; 纳米粒; 游离氨基; 理化性质

中图分类号: R943.4 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)03 - 0323 - 06

## Free amino groups on the surface of chitosan nanoparticles and its characteristics

LIN Aihua<sup>1,2</sup>, LIU Yiming<sup>1</sup>, PING Qining<sup>2\*</sup>

(1. Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China; 2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** The relationship of free amino groups on the surface and the characteristics of chitosan nanoparticles (CS-NPs) prepared by ionic gelation method was investigated. Free amino groups on the surface of CS-NPs were determined by colloidal titration, and the effects of the amount of free amino groups and its ionizable level on the particle size, zeta potential, appearance, drug entrapment efficiency and drug release profile *in vitro* of CS-NPs were investigated. The result showed that the surface free amino groups reduced, the average size, zeta potential, stability of nanoparticles, and the drug release rate and degree all decreased while the drug entrapment efficiency was not affected with the increase of tripolyphosphate (TPP) concentration. With the increase of pH, the free amino groups could be deprotonated and the ionizable level was stepped down, correspondingly the particle size and zeta potential of CS-NPs decreased. Additionally, the drug release rate and degree were elevated in acid medium while descended in neutral or base medium. The amount and ionizable level of free amino groups on the surface are affected by the gelation degree and pH, which further affected the volume phase transitions (swelling / shrinking processes) of CS-NPs. The properties of CS-NPs have correlation with the surface free amino groups.

**Key words:** chitosan; nanoparticle; free amino group; physicochemical property

收稿日期: 2006-09-05.

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (04010047).

\* 通讯作者 Tel: 86 - 25 - 83271098, Fax: 86 - 25 - 83301606,

E-mail: pingqn@cpu.edu.cn

主动靶向给药系统即用某种具有特殊亲和力的载体把药物定向输送到靶器官、靶细胞发挥作用,从而减少药物全身分布,减少用药剂量和给药次数,降低其不良反应。治疗药物对靶细胞特异性定位分布

是药学领域的一个极富科技意义的挑战。壳聚糖纳米粒 (chitosan nanoparticles, CS-NPs) 由于具有良好生物相容性及生物可降解性, 因而在药剂学中的应用日趋广泛<sup>[1,2]</sup>。CS-NPs 表面游离氨基使其具有许多特殊功能, 可进行多功能基化学反应和立体结构修饰, 如将具有主动寻靶作用的单抗或配体通过化学修饰与之相结合, 获得具有定位传输功能的主动靶向制剂<sup>[3,4]</sup>。CS-NPs 制备大多采用化学交联法和离子凝胶法<sup>[5]</sup>, 前者是通过交联剂与壳聚糖中氨基化学键合, 后者通过阴离子与带正电氨基的静电作用而发生物理交联反应。在两种制备方法中, 被结合的氨基将失去了靶向修饰的能力<sup>[6]</sup>。因此, 明确表面游离氨基的数量及解离程度, 了解这些因素与 CS-NPs 其他重要特性之间的关系, 是设计 CS-NPs 主动靶向制剂必须解决的问题。

本实验以普遍采用的离子凝胶法制备 CS-NPs, 研究凝聚剂浓度及纳米粒分散介质 pH 对表面游离氨基的数量及解离程度的影响, 同时测定纳米粒形态、粒径、表面电位、稳定性、药物包封率 (以阿霉素为模型药) 及释药动力学等重要性质, 了解表面游离氨基与纳米粒其他重要特性之间的联系, 为设计 CS-NPs 主动靶向给药系统提供有效的调控方法。

## 材料与方法

**仪器与设备** 高效液相色谱仪, 包括 Waters 600 泵和 Waters 996 紫外检测器 (Waters 公司); JEM-2010HR 透射电子显微镜 (点分辨率: 0.23 nm, 晶格分辨率: 0.14 nm, 日本电子株式会社); Zetamaster 马尔文粒度仪 (英国 Malvern 公司); UH-800B 超声波匀质仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司); 超滤离心管 (5000MW, 德国 Sartorius 公司)。

**药品与试剂** 壳聚糖 (脱乙酰度 > 85%, Sigma 公司); 盐酸阿霉素 (doxoubicin hydrochloride, DXR, 中国药品生物制品检定所); 三聚磷酸钠 (sodium tripolyphosphate, TPP, 天津市化学试剂一厂); 聚乙烯硫酸钾 [poly(vinyl sulfate kalium salt), PVSK, 链节相对分子量以  $C_2H_3SO_3K$  计算为 162.2, Sigma 公司]; 苯甲胺蓝 (上海化学试剂公司); pH 4.5 醋酸盐缓冲液 (取醋酸钠 3.6 g, 加冰醋酸 1.96 mL, 再加水稀释至 200 mL); pH 7.4 磷酸盐缓冲液 (取磷酸二氢钾 1.36 g, 加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 79 mL, 再用水稀释至 200 mL); pH 9.5 碳酸盐缓冲液 (0.2 mol·L<sup>-1</sup> 碳酸钠和 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 碳酸氢钠以 13:37 体积比混合); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为

分析纯。

**CS-NPs 及载药 CS-NPs 的制备** 应用离子凝胶法制备壳聚糖纳米粒。在室温搅拌条件下, 将不同质量浓度 TPP 溶液 (0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2 mg·mL<sup>-1</sup>) 与 2 mg·mL<sup>-1</sup> 壳聚糖溶液 (溶于 1% 醋酸中) 以体积比 2:5 混合, 通过阴阳离子的静电作用自发形成纳米粒, 超声分散 1 min, 得系列空白 CS-NPs 混悬液。另称取适量 DXR, 加到壳聚糖溶液中, DXR 质量浓度为 0.2 mg·mL<sup>-1</sup>, 同法制备得系列载药 CS-NPs 混悬液。

**胶体滴定测定 CS-NPs 表面游离氨基<sup>[7]</sup>** 用双蒸水配制 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> PVSK 标准溶液。精密移取 10 mL 壳聚糖溶液, 按上述方法制备系列空白 CS-NPs 液, 定容至 20 mL。精密移取 5 mL 置于锥形瓶中, 加入 0.2% T. B 指示剂 100 μL, 摇匀后用 PVSK 标准溶液滴定至溶液由蓝色变为紫红色, 并在 10 s 内不褪色即为终点。另移取双蒸水 5 mL 做空白实验。记录样品滴定与空白滴定所消耗 PVSK 的体积差  $\Delta V_1$ 。另精密移取 2 mg·mL<sup>-1</sup> 空白壳聚糖溶液 10 mL, 定容 20 mL, 从中移取 5 mL 同法滴定, 记为  $\Delta V_0$ , 每批样本平行测定 3 次。CS-NPs 表面氨基游离率为 CS-NPs 表面游离氨基摩尔数与等量壳聚糖溶液中总游离氨基摩尔数的百分比, 即:  $\Delta V_1 / \Delta V_0 \times 100\%$ 。

**CS-NPs 形态、粒径和电位分析** 取少量 CS-NPs 混悬液 10 倍稀释, 滴至铺有碳膜的铜网上, 静置 2 min, 再滴加 2% 磷钨酸负染 2 min, 在透射电子显微镜下观察其形态。另取纳米粒液适量, 用激光粒度分析仪测定纳米粒的平均粒径及 zeta 电位。每组重复实验 3 批。

**pH 对 CS-NPs 表面游离氨基及物理性状的影响** 取系列 CS-NPs 液各 20 mL, 搅拌条件下缓慢滴加 0.4 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液, 调至 pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 时搅拌 1 h, 超声分散 1 min, 测定纳米粒的粒径、电位变化。取 pH 4.0, 6.0 环境下 1.25 mg·mL<sup>-1</sup> TPP 交联 CS-NPs 电镜下观察形态。每组重复实验 3 批。

**阿霉素壳聚糖纳米粒 (DXR-CS-NPs) 包封率的测定** 移取载药 CS-NPs 1 mL 加到超滤管中, 3500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取离心液, 稀释 10 倍, RP-HPLC 法测定含量, 计算游离药物量  $W_{游}$ , DXR 的包封率 =  $(W_{总} - W_{游}) / W_{总} \times 100\%$  ( $W_{总}$  表示药物总投放量)。取 20 mg·L<sup>-1</sup> 的 DXR 标准溶液 1 mL 加到超滤管中, 同法操作, 测定离心液中的药物浓

度,计算回收率。每组重复实验 3 次。

**阿霉素含量分析方法** (1)按文献[8]方法稍加改进, HPLC 色谱条件:流动相为甲醇-乙腈-0.01 mol·L<sup>-1</sup>乙酸钠溶液-冰醋酸(40:10:50:1);色谱柱:ZORBAX C<sub>8</sub>柱(5 μm, 4.3 mm × 150 mm, Agilent 公司);检测波长:254 nm;柱温:25 °C;流速:1 mL·min<sup>-1</sup>;进样量为 10 μL。(2)标准曲线制备:精密称取 DXR 对照品,用 50%甲醇-水配成质量浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup>的储备液。再配制终质量浓度为 20, 10, 5, 2.5, 1.25 和 0.63 mg·L<sup>-1</sup>的系列标准溶液, HPLC 法测定含量。以浓度 C 对峰面积 A 作线性回归。并将 100 mg·L<sup>-1</sup>的储备液做 10 倍稀释实验,计算回收率。

**体外释药实验** 精密移取各载药纳米粒 4 mL, 加入筒状透析袋中,用透析夹子夹住两端,悬浮于 50 mL 介质溶液(水, pH 4.5 醋酸钠缓冲液, pH 7.4 磷酸盐缓冲液, pH 9.5 碳酸钠缓冲液)中, 37 °C 水浴摇床,分别于 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 和 72 h 取外液 1 mL,同时补充等量介质。HPLC 法测定含量,计算释放的游离药物总量及各时间点纳米粒的累积释放率。以下式计算:累积释放率=(透析外液药物总量/纳米粒液中药物总量)×100%。精密取 4 mL 游离阿霉素水溶液(同纳米粒中药物含量, 0.14 mg·mL<sup>-1</sup>),按同法透析,考察该透析条件的回收率。

## 结果

### 1 纳米粒表面游离氨基数量与粒径和电位的关系

CS-NPs 的表面游离氨基在酸性介质中被质子化为 -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>,用标准聚阴离子 PVSK 直接滴定表面游离氨基。由表 1 可见,随着 TPP 的质量浓度增

加,壳聚糖中的 -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 数明显减少,表明 TPP 阴离子与壳聚糖 -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 基团分子间和分子内的交联是 CS-NPs 形成的关键,通过控制 TPP 阴离子与壳聚糖 -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 的比例可得到不同表面氨基游离率的 CS-NPs。随着表面游离氨基数量的减少,CS-NPs 粒径和 zeta 电位相应减少和降低。

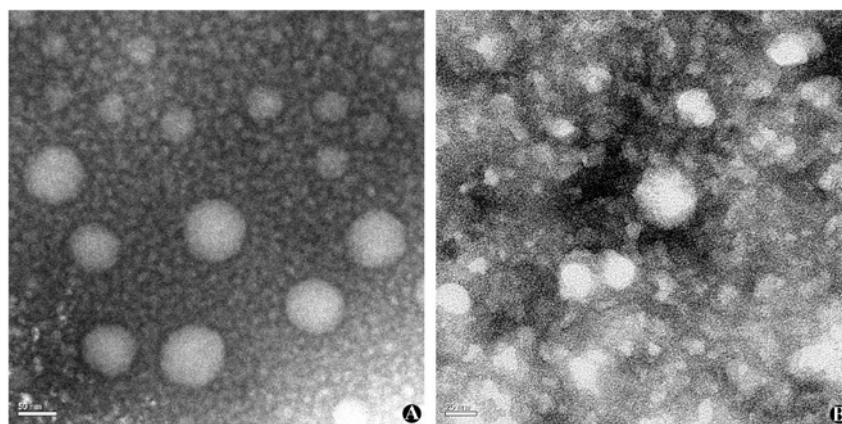
### 2 表面游离氨基的离解程度对 CS-NPs 物理性状的影响

**2.1 纳米粒的形态特点** 在透射电子显微镜下, pH 4 时纳米粒呈球形或类球形,结构紧密,大小较均一(图 1A),而 pH 6.0(负染剂磷钨酸也调至相应 pH)时纳米粒粒径变小,形态不规则,易粘连,聚集成团(图 1B)。

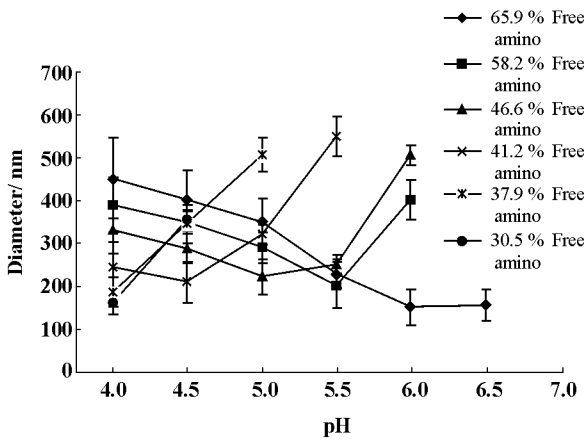
**2.2 粒径变化** 壳聚糖氨基质子化与介质中 [H<sup>+</sup>] 密切相关,可通过调节溶液 pH 改变 CS-NPs 表面游离氨基的离解程度。随着溶液的 pH 增加,氨基质子化程度降低,粒径减少,表面游离氨基数越多,粒径减小的趋势越明显(图 2)。表面游离氨基数少,随着 pH 增加,CS-NPs 体系很不稳定,尽管在形态学观察时粒径变小,但此时纳米粒极易聚集,激

**Table 1** Relations of free amino groups on the surface and particle size and zeta-potential ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Concentration of TPP/mg·mL <sup>-1</sup>	Rate of amino groups on the surface/%	Particle size/nm	Zeta-potential/mV
0	100	-	-
0.75	65.92 ± 0.95	450.6 ± 45.3	25.6 ± 1.3
1.00	58.20 ± 0.36	397.2 ± 36.8	21.5 ± 3.1
1.25	46.62 ± 1.04	331.0 ± 33.4	18.4 ± 1.6
1.50	41.16 ± 0.64	247.5 ± 28.3	16.8 ± 0.7
1.75	37.94 ± 1.10	187.6 ± 20.4	14.6 ± 0.4
2.00	30.50 ± 0.78	163.3 ± 24.5	9.4 ± 1.0



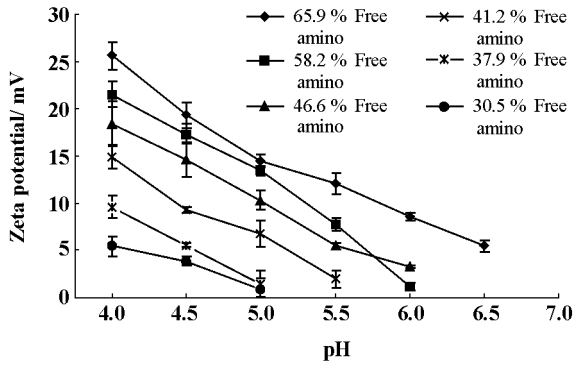
**Figure 1** Transmission electron micrograph of CS-NPs prepared by ionic gelation. A: Condition of pH 4; B: Condition of pH 6.0



**Figure 2** Diameter variation of the nanoparticles as protonation change of free amino groups on the surface ( $n = 3$ )

光粒径测定仪测定的结果粒径呈增大趋势,最终溶液发生絮凝。

**2.3 电位变化** 表面电荷性质是纳米颗粒体系稳定性的关键指标。由图 3 可见,游离氨基数越多,且质子化程度高, zeta 电位越高,随着溶液 pH 值升高,氨基质子程度降低, zeta 电位显著下降,纳米颗粒易聚集,沉淀,这与上述实验现象一致。



**Figure 3** Zeta potential variation of the nanoparticles as protonation change of free amino groups on the surface ( $n = 3$ )

**3 TPP浓度对 DXR-CS-NPs包封率的影响**

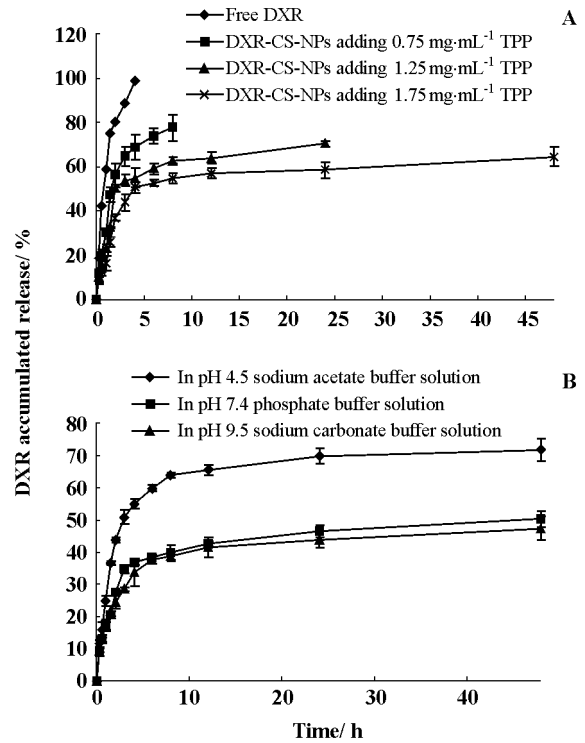
**3.1 标准曲线** 方法学考察结果表明,在  $0.63 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  内浓度  $C$  对峰面积  $A$  呈良好的线性关系,其回归方程  $C = 4.2634 \times 10^{-5} A + 0.0138$  ( $r = 0.9999$ )。DXR 的 3 个质量浓度 ( $0.63, 2.5, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的平均回收率为  $(98.53 \pm 0.94)\%$ , 日内、日间变异均小于  $5\%$ 。 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  DXR 储备液 10 倍稀释实验的回收率为  $(99.24 \pm 1.06)\%$ 。

**3.2 包封率** 以不同质量浓度 TPP 溶液 ( $0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75$  和  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 交联 DXR 纳米粒

的包封率分别为  $(60.7 \pm 2.3)\%$ ,  $(64.7 \pm 1.6)\%$ ,  $(66.8 \pm 3.7)\%$ ,  $(65.5 \pm 2.1)\%$ ,  $(67.8 \pm 1.2)\%$ ,  $(65.1 \pm 2.8)\%$ 。可见,表面游离氨基数对 CS-NPs 的包封率无明显影响。 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  DXR 标准液的回收率为  $(98.72 \pm 0.86)\%$ 。

**4 表面游离氨基对 DXR-CS-NPs体外释药的影响**

游离的 DXR 溶液在水中 4 h 内能完全透出,回收率达到  $98.83\%$ ,符合释放要求(图 4A)。载药纳米粒的释药过程均表现为:在 2 h 内释药较快;2 h 后释放趋于平缓,具有一定的缓释效果;随着交联剂浓度的提高,表面游离氨基减少,纳米粒的释药速度和释放量进一步减少。 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  TPP 交联纳米粒 8 h 内累积释放率达到  $(77.7 \pm 5.9)\%$ ,  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  TPP 交联纳米粒 24 h 内累积释放率为  $(70.2 \pm 1.4)\%$ ,  $1.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  TPP 交联纳米粒 48 h 内累积释放率为  $(64.6 \pm 4.34)\%$ 。以累积释放率 ( $Q$ ) 和时间 ( $t$ ) 拟合方程,释药曲线均符合对数正态分布模型。 $0.75, 1.25, 1.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  TPP 交联 DXR 纳米粒释药的对数正态分布方程分别为:  $\lg Q_{0.75} = 1.4875 + 0.5576 \lg t, r = 0.9693$ ;  $\lg Q_{1.25} = 1.3724 + 0.5552 \lg t, r = 0.9842$ ;  $\lg Q_{1.75} = 1.3008 + 0.5558 \lg t, r = 0.9814$ 。



**Figure 4** Effect of TPP concentrations (A) and pH (B) on drug accumulated release of DXR-CS-NPs ( $n = 3$ )

图 4B 考察了  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  TPP 交联纳米粒在酸性、中性和碱性条件下的表面游离氨基的质子化程度对药物释放度的影响。在 pH 4.5 醋酸钠缓冲液中, 纳米粒 2 h 内释药 ( $43.59 \pm 0.87$ )%, 48 h 内释药达到 ( $71.34 \pm 3.23$ )%。在 pH 7.4 磷酸盐缓冲液和 pH 9.5 碳酸钠缓冲液中药物的释放速度和释放量均减少, 2 h 内累积释药分别为 ( $27.43 \pm 0.69$ )% 和 ( $24.36 \pm 1.8$ )%, 48 h 内累积释药分别为 ( $50.1 \pm 2.58$ )% 和 ( $47.3 \pm 3.59$ )%。4 h 内游离 DXR 在上述 3 种缓冲液中均能完全透出, 符合释放要求。

## 讨论

壳聚糖 (chitosan, CS) 是一种天然聚氨基多糖, 在酸性条件下氨基被质子化而溶解, 荷正电。离子凝胶法是制备壳聚糖纳米粒最常用的方法, 壳聚糖分子链上的氨基阳离子和聚阴离子通过静电作用发生分子内和分子间的交联而生成 CS-NPs<sup>[9]</sup>, 壳聚糖浓度一定时, TPP 浓度增加, 氨基阳离子与 TPP 聚阴离子的分子间静电作用增强, 导致纳米粒球体由开始的疏松结构逐步变成紧密结构, 成球越来越容易, 粒径变小。TPP 浓度增加到一定程度时即产生沉淀, 由于大量的壳聚糖分子链与 TPP 交联在一起或球体表面的游离氨基进一步与 TPP 交联而产生粒子聚集。此外, 随着 TPP 浓度增加, 纳米粒表面游离氨基数量减少, 其表面电荷逐渐下降也是粒子聚集的重要原因之一。本实验在透射电镜下观测到 CS-NPs 粒径小于在激光粒度分析仪测得的粒径, 这是由于采用电镜检测, 样品经过稀释分散, 而 CS 溶液本身具有一定黏度, 微粒易聚集, 使激光粒度分析仪测得的粒径偏大。

TPP 交联 CS-NPs 为纳米水凝胶体系, 凝胶的重要性质之一就是具有一定的溶胀度, 水凝胶中结合水的量主要取决于分子链中极性基团的数量, 改变聚合物的极性或聚合物的荷电性均能显著改变水凝胶的溶胀度<sup>[5]</sup>。对于荷电水凝胶, 它的收缩、溶胀的体积相转变过程与水性介质的 pH 等因素有很大关系。壳聚糖分子链中含有 pH 依赖可电离的氨基团, pH 的变化可促进或抑制氨基解离而改变凝胶体系的电性和溶胀行为<sup>[10]</sup>。本实验证实 CS-NPs 在不同的 pH 介质中存在明显的溶胀-收缩过程。纳米粒随着介质 pH 值的升高, 凝胶粒子呈收缩趋势, 表现为粒径减小, 且表面游离氨基数量越多, 收缩变化越明显。文献<sup>[11]</sup>报道, 壳聚糖 pKa 在 6~7 之间 (取

决于壳聚糖本身的脱乙酰程度), 在 pH = 5.5 时, 有 >90% 的氨基质子化, 随着溶液 pH 升高, 氨基离解程度降低, zeta 电位降低, 稳定性差, 表面游离氨基数量少的 CS-NPs, 由于表面电荷少, 增加溶液 pH 值, 即使 CS-NPs 体积相转变为收缩过程, 但由于 zeta 电位降低接近零, 粒子易聚集-沉淀。

CS-NPs 释药存在凝胶粒子溶胀扩散和溶胀-崩塌的体积相转变两个过程<sup>[1]</sup>。本文所制备的 CS-NPs, 影响表面游离氨基数量的直接原因是 TPP 的用量, 即参与反应的 TPP 用量越大, 游离氨基数越少。实际上, TPP 的用量直接影响了水凝胶型颗粒的交联度, 从而影响其溶胀、药物释放性质。交联度低的 CS-NPs, 表面游离氨基多, 由于氨基阳离子与 TPP 聚阴离子的分子间静电小, 粒子大而结构疏松, 药物容易从纳米粒中扩散出来, 释药速度快和释药程度高, 粒子溶胀-崩塌的体积相转变也较容易。固定交联程度的纳米粒在酸性释药环境中, 质子化程度高, 粒子易于溶胀; 相反, 在中性和碱性介质中, 纳米粒表面游离氨基质子化程度降低, 粒子较难溶胀, 药物扩散和体积相变速度减慢, 释药的速度和程度减缓。此外, 在中性和碱性介质环境中, 粒子稳定性下降而产生絮状沉淀, 粒子的形态变化也是影响药物释放原因之一。

运用现代分子设计思想和先进合成技术对 CS-NPs 表面进行修饰, 使其具有靶器官、靶组织和靶细胞所要求的选择性, 是壳聚糖靶向制剂研究的发展趋势。CS-NPs 表面游离氨基是其化学修饰的最佳位点。本实验首次从 TPP 交联 CS-NPs 表面游离氨基角度探讨其与粒径、形态、稳定性、包封率和释药行为等性质的关系, 为进一步研究 CS-NPs 的表面修饰及其反应介质条件、预测其药剂学特征等提供了实验依据和参考指标。

## References

- [1] Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery [J]. *J Control Release*, 2004, 100: 5 - 28.
- [2] Aktas Y, Andrieux K, Alonso MJ, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of chitosan nanoparticles containing a caspase inhibitor [J]. *Int J Pharm*, 2005, 298: 378 - 383.
- [3] Zhang C, Ding Y, Ping QN. Synthesis and characterization of water-soluble 6-O-succinyl-N-galactosylated chitosan derivatives [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2005, 36: 291 - 295.
- [4] Park IK, Jiang HL, Cook SE, et al. Galactosylated

- chitosan (GC)-graft-poly(vinylpyrrolidone) as hepatocyte-targeting DNA carrier: *in vitro* transfection [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27: 1284 - 1289.
- [5] López-León T, Carvalho EL, Seijo B, et al. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior [J]. J Colloid Interf Sci, 2005, 283: 344 - 351.
- [6] Yao Q, Hou SX, He WL, et al. Study on the preparation of resveratrol chitosan nanoparticles with free amino groups on the surface [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31: 205 - 208.
- [7] Chen HF, Pan SR, Wang QM. Synthesis of carboxymethyl chitosan and determination of substitution degree [J]. J Huazhong Univ Sci Technol (Health Sci) (华中科技大学学报 医学版), 2003, 32: 152 - 156.
- [8] Liu SY, Chen XQ, Zhang ZY. Determination of adriamycin in plasma and tissue [J]. J Tianjin Normal Univ (Nat Sci Ed) (天津师范大学学报 自然科学版), 2002, 22: 57 - 59.
- [9] Xu YM, Du YM. Studies on controlled release of protein drugs from chitosan Nanoparticles with low molecular weight [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci Ed) (武汉大学学报·理学版), 2003, 49: 470 - 474.
- [10] Ping QN. Modern Pharmaceutics (现代药剂学) [M]. Beijing: Chinese Medicine Science and Technology Press, 1998: 764 - 766.
- [11] Mao HQ, Roy K, Troung-Le VL, et al. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency [J]. J Control Release, 2001, 70: 399 - 421.

## · 书 评 ·

人类进入 21 世纪后,由于以基因组学为代表的生命科学、组合化学、高通量筛选和信息技术的飞速发展,各种类别迥然不同的新型药物和生物技术产品不断问世。同时,由于发现了 COXII 抑制剂类非抗心率失常药物所致的 Q-T 间期延长;中药马兜铃酸及其代谢产物引起的急性肾功能衰竭;以及基因治疗产品导致白血病等新的严重的药物不良事件,如何科学地预测和评价新药、中药及生物技术产品,以及其他新的化学物质对人类健康危害的可能,提供它们的应用对人类健康可能产生的潜在安全影响的科学依据,即系统的药物安全性评价,实为决定新药能否进入市场、应用于人体的前提与决定性关键因素。

应当指出,在浩若翰海的种种涉及安全评价的方法、技术和文献之中,最为重要的基础工作,就是药物在不同实验动物中的毒性病理学的检查和诊断。据此,我们可以观察和测定化学物质对机体引起的损害、发病机理以及对机体全身的影响。无论是急性毒性试验、长期毒性试验、致畸试验,还是致癌试验,其病变的发现、部位的确定、病因的探索均需基于毒性病理学的检查和诊断。而且,试验的周期越长,毒性病理学检查的结果就越为重要。虽然,药物安全性评价涉及到药物毒性损害的剂量、药效毒性安全比、毒性作用靶细胞、毒性作用持续时间、蓄积毒性及药物结构与毒性强弱关系等多项试验内容。但是,最终为这些试验提供根本依据,科学地描述这些结果的,多数仍然是毒性病理学试验诊断和报告。据此所判定的药物造成病理性损伤的部位、程度、性质和预后等最基本的问题,可为药物的安全性评价提供最重要的依据。如果说毒性病理学检测和试验的标准和水平左右着整个安全性评价工作的水平,是并不为过的。

笔者欣喜的看到由日本财团法人“食品农医药品安全性评价中心”与中科院上海药物研究所“药物安全评价研究中心”共同努力,历时两年多,编写出版的《图解毒性病理学》一书。这是一本理论与实际并重、图文并茂的好书。尤其是这本书登载了动物机体各个系统的、多达 500 余幅的病理照片,其区分为多个章节,逐一详细地介绍了实际病例、病因分析和诊断、鉴别诊断的方法,是一本内容广泛、理论知识丰富、试验依据充分和实用性强的毒性病理学指导参考用书和良好的教材。此外,本书还按照动物种类及其病变部位,具体指导如何切片、制片等技术和手法,对于实验操作也有很大的指导意义。

笔者欣然推荐,本书可作为一部毒性病理学专业人员案头实不可少的参考书,也是对于从事安全评价工作和动物病理工作的教学、研究和试验人员的极有价值的参考教材。对于从事医学、药学、兽医学、动物学等领域的人员等也有很大的指导作用。相信本书的出版,对于我国毒性病理学的进步将会起到重要的推动作用,亦可望为保证人民用药安全有效发挥其不可替代的作用。

中国药品生物制品检定所 所长  
中国工程院 院士 桑国卫

