

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00337

氟尿嘧啶纳米粒表面修饰人工晶状体的制备及体外性质

Preparation and evaluation of intraocular lens with surface modified by fluorouracil nanoparticles

黄 潇,魏锐利*,刘园园,蔡季平

第二军医大学长征医院眼科,上海 200003

[摘要] 目的:以氟尿嘧啶纳米粒(5-Fu-NP)对聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)人工晶状体进行表面修饰,并测定其体外性质。

方法:将壳聚糖、聚丙烯酸与氟尿嘧啶通过滴入分散法制备 5-Fu-CS-NP。利用载能离子束技术对 PMMA 人工晶状体进行 5-Fu-NP 表面修饰。考察人工晶状体表面纳米粒粒径、含药量以及体外释药特性。**结果:**表面修饰人工晶状体氟离子束剂量为 $5 \times 10^{13} \sim 5 \times 10^{15}$ ions/cm²,表面分布有大小不等的 5-Fu-NP 球形颗粒,多数小颗粒粒径在 100 nm 以下,少数大颗粒粒径主要集中在 100~400 nm,含药量为 19.55~35.94 μg/枚。5-Fu-NP 表面修饰人工晶状体能在 4 d 内持续释放药物。**结论:**5-Fu-NP 表面修饰人工晶状体缓释作用较好,有望成为可预防后发性白内障的新型人工晶状体。

[关键词] 氟尿嘧啶;表面修饰;人工晶状体;纳米技术

[中图分类号] R 776 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2009)03-0337-03

随着白内障超声乳化技术及人工晶状体(intraocular len, IOL)植入术的发展,白内障的手术效果明显提高,但术后晶状体后囊膜混浊(posterior capsule opacification, PCO)仍然是影响视力提高的主要并发症^[1]。氟尿嘧啶(flourouracil, 5-Fu)是胸苷酸合成酶的抑制剂,可有效抑制细胞的有丝分裂,是临床常用抗肿瘤药物。在眼科可用于预防 IOL 植入术后 IOL 前膜和后发性白内障^[2-3]。本研究制备了眼用氟尿嘧啶壳聚糖(chitosan, CS)纳米粒(nanoparticles, NP),并通过载能离子束技术使之修饰聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)人工晶状体表面,以期防治白内障术后 PCO 的发生。

1 材料和方法

1.1 仪器 FA2004 电子天平(上海天平仪器厂);多功能搅拌器(安徽省天长市恒运电器厂),透析袋(上海医药公司试剂公司,可滤过相对分子质量为 10 000),XMT-152C 型数显式电热恒温水浴锅(上海跃进医疗器械厂)。B500S 超声清洗机(上海人和科学仪器有限公司),真空干燥器(德国 VIT-LAB 公司),低能离子注入机(中国科学院上海应用物理研究所),扫描电子显微镜(日本电子株式会社)。

1.2 试剂 氟尿嘧啶注射液 0.25 g/10 ml(上海旭东海普药业有限公司);5-Fu 标准品(Sigma 公司);壳聚糖(上海如吉生物科技发展有限公司)脱乙酰度大于 92%,平均相对分子质量为 40 000~80 000。聚丙烯酸(ALDRICH 公司)相对分子质量 100 000,35%(W/V),化学纯。冰醋酸(国药集团

化学试剂有限公司),分析纯。醋酸钠(国药集团化学试剂有限公司),分析纯。PMMA 人工晶状体(上海潇莱科贸有限公司)。氟离子(实验室自制),去离子水(实验室自制),无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司),分析纯。表面活性剂(国药集团化学试剂有限公司),分析纯。

1.3 氟尿嘧啶-壳聚糖纳米粒混悬液的制备 采用滴入分散法制备氟尿嘧啶-壳聚糖纳米粒(5-Fu-CS-NP)混悬液。在室温、持续磁性搅拌下将适量 5 mg/ml 的 5-Fu 溶液滴加入 1 份含 1%(W/V)壳聚糖的 1%(W/V)的醋酸溶液中混匀,再将上述混合液逐滴加入 5 份 1%(W/V)聚丙烯酸溶液中,控制滴速 2 ml/min。反应 30 min 到 2 h 直至形成乳白色混悬液,中止反应,停止搅拌,过滤去除团聚物,将滤液移入透析袋置于 250~500 ml pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液中,透析 24 h 去除剩余单体即得 5-Fu-CS-NP 混悬液。

1.4 制备 5-Fu-NP 表面修饰 IOL PMMA 人工晶状体由去离子水在净化工作台环境下用超声清洗机反复清洗 3 次。在无水乙醇中浸泡 24 h,干燥后再浸入表面活性剂溶液中 24 h,在真空干燥器内干燥保存待用。经表面清洗活化的 IOL 用低能离子注入机进行氟离子双面注入。分为 A、B、C 3 组,处理的能量均为 70 keV,氟离子的剂量分别为 5×10^{13} 、 5×10^{14} 、 5×10^{15} ions/cm²,每组 10 枚。经氟离子处理的 IOL 和氟尿嘧啶-壳聚糖纳米粒混悬液配合浸渍 48 h。经上述处理修饰后的 IOL 用去离子水在超净工作台上反复超声清洗,干燥包装后用环氧乙烷消毒保存。用扫描电子显微镜观察

[收稿日期] 2008-07-07 **[接受日期]** 2008-09-23

[基金项目] 上海市科委纳米专项基金(0452nm015);全军医药卫生科研基金课题(06MA177)。Supported by Fund for Nano-research of Shanghai Science and Technology Committee (0452nm015) and Fund of Military Medical Research(06MA177)。

[作者简介] 黄 潇,硕士,住院医师。E-mail:sophiahx@gmail.com

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel:021-81885921, E-mail:ruiliwei@gmail.com

5-Fu-NP表面修饰 IOL 与 PMMA 人工晶状体的表面形貌。

1.5 5-Fu 含量测定 将配制的 5-Fu 母液及壳聚糖-聚丙烯酸纳米粒混悬液分别在波长 200~400 nm 范围内扫描,结果 5-Fu 在波长 265.5 nm 处有最大特征吸收,而空白纳米粒混悬液在此处无吸收,不干扰 5-Fu 测定。

5-Fu 标准曲线的制备:精密量取 5-Fu 标准品容量瓶中滴定,适当稀释配制成 1~20 μg/ml 的 5-Fu 溶液,测定其在 265.5 nm 处的光密度值,以光密度(A)对药物浓度(C)拟合,得回归方程。酸溶法检测载药量。取同组 5-Fu-NP 表面修饰 IOL n 枚,浸泡于一定体积 1% 稀盐酸溶液中过夜。测定溶液中 5-Fu 浓度计算每枚 5-Fu-NP 表面修饰 IOL 平均含药量的计算公式如下:平均含药量(μg/枚)=5-Fu 浓度×稀盐酸体积/n。

1.6 5-Fu-NP 表面修饰 IOL 体外释放特性 取同组数枚上述 IOL 置于 100 ml pH 7.2 的 PBS 缓冲液,保持恒温(37±1)℃,磁性搅拌子转速(100±1)转/min,分别在 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h 取样 5 ml,同时立即补充同温度等体积的释放介质。用紫外分光光度法检测所取样品中药物的浓度,由工作曲线回归方程计算药物累计释放百分比并绘制释放曲线。

2 结果

2.1 5-Fu-NP 表面修饰 IOL 表面形貌 表面分布有大小不等的球形颗粒,多数小颗粒粒径在 100 nm 以下,少数大颗粒粒径主要集中在 100~400 nm(图 1A),PMMA 人工晶状体表面比较光滑,未见明显颗粒(图 1B)。

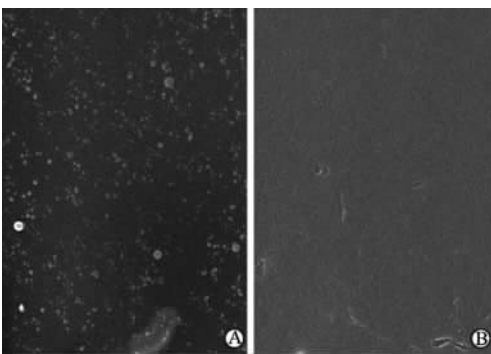


图 1 5-Fu-NP 表面修饰 IOL(A)和 PMMA 人工晶状体(B)表面扫描电镜照片

Original magnification:×10 000

2.2 含药量测定 标准曲线回归方程为 $A = 0.0399C + 0.0314$, $r = 0.999$ 。根据标准曲线回归方程计算不同离子束能量处理的人工晶状体的含药量,当 F^- 剂量分别为 5×10^{13} 、 5×10^{14} 、 5×10^{15} ions/cm² 时,5-Fu 含药量分别为 (19.55 ± 1.31) 、 (34.20 ± 2.06) 、 (35.94 ± 1.95) μg。

2.3 体外缓释特性 三组 5-Fu-NP 表面修饰 IOL 均能在 4 d 内持续释放药物(图 2)。

3 讨论

引起 PCO 的主要原因是白内障术后残留的晶状体上皮细胞(lens epithelial cell,LECs)及其衍生细胞的增殖、移行和纤维化[4]。氟尿嘧啶是胸苷酸合成酶的抑制剂,可有效抑制细胞的有丝分裂,是临床常用抗肿瘤药物。在眼科可用于预防 IOL 植入术后 IOL 前膜和后发性白内障[2-3]。因眼部直接应用 5-Fu 对角膜、睫状体、视网膜毒副作用大,故目前尚无滴眼剂,也没有合适的用眼缓释制剂,其临床应用受到限制。多项研究[2,5-6]证明,如果能持续稳定缓慢给药,5-Fu 在极低的浓度下即可起到较好的抑制晶状体上皮细胞增殖和移行的作用,从而预防后发性白内障。

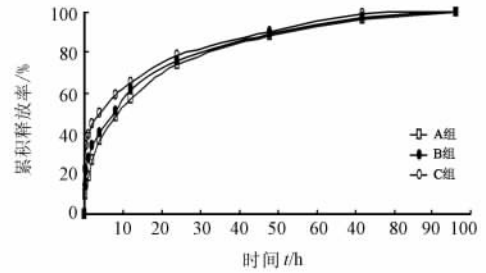


图 2 5-Fu-NP 表面修饰 IOL 体外释放曲线

纳米粒作为新型药物载体,具有增加药物黏附性、延缓药物释放的特点。壳聚糖是一类带正电的直链多糖,具有良好的生物相容性、生物可降解性和多种生物活性[7-9],与聚丙烯酸可以在温和条件下形成纳米粒径的聚电解质络合物[10]。

本研究以壳聚糖-聚丙烯酸纳米粒为药物载体制备 5-Fu 纳米粒,并通过载能离子束技术使之附着于 IOL 表面,制得 5-Fu-NP 表面修饰的 IOL。这种新型的 IOL 为后房型 IOL,需植入晶状体囊内,5-Fu-NP 将直接与 LECs 接触,在靶细胞局部持续 4 d 缓慢释放,抑制 LECs 增殖移行,从而避免后发性白内障的发生。

氟尿嘧啶-壳聚糖-聚丙烯酸纳米粒体外释药存在突释现象,可能为氟尿嘧啶单体未完全滤除而吸附在纳米粒外围所致,进一步验证需要考察氟尿嘧啶-壳聚糖-聚丙烯酸纳米粒的空间构型。

关于离子束能量与 IOL 含药量的关系,笔者以为,在 PMMA IOL 表面注入不同剂量的氟离子束,IOL 表面就出现不同密度的活性位点,浸渍在纳米粒悬浮液后结合纳米粒的量也有所不同。氟离子束的剂量与 IOL 含药量的数学关系有待进一步研究证实。

[参考文献]

[1] Findl O, Buehl W, Bauer P, Sycha T. Interventions for preventing posterior capsule opacification[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2007, (3): CD003738.
 [2] Abdelwahab M T, Kugelberg M, Kugelberg U, Zetterström C. After-cataract evaluation after using balanced salt solution, dis-

- tilled deionized water, and 5-fluorouracil with a sealed-capsule irrigation device in the eyes of 4-week-old rabbits[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2006, 32:1955-1960.
- [3] 李筱荣,刘新玲,常 津,刘小燕. 靶向 5-氟尿嘧啶纳米微球对体外培养的人晶状体上皮细胞作用的研究[J]. *中华眼科杂志*, 2006, 42:526-530.
- [4] Berthlmann E, Kojetinsky C. Posterior capsule opacification and anterior capsule opacification [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2001, 12:35-40.
- [5] McDonnell P J, Krause W, Glaser B M. *In vitro* inhibition of lens epithelial cell proliferation and migration[J]. *Ophthalmic Surg*, 1988, 19:25-30.
- [6] Yamamoto T, Soong H K, Lighter P R. Effects of 5-Fu on cultured rabbit lens epithelial cells[J]. *J Ophthalmol*, 1990, 34:325-330.
- [7] Anal A K, Tobiassen A, Flanagan J, Singh H. Preparation and characterization of nanoparticles formed by chitosan-caseinate interactions[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2008, 64:104-110.
- [8] Liu Z, Jiao Y, Liu F, Zhang Z. Heparin/chitosan nanoparticle carriers prepared by polyelectrolyte complexation[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2007, 83:806-812.
- [9] Gan Q, Wang T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier-systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2007, 59:24-34.
- [10] Hu Y, Jiang X, Ding Y, Ge H, Yuan Y, Yang C. Synthesis and characterization of chitosan-poly (acrylic acid) nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2002, 23:3193-3201.

[本文编辑] 尹 茶

• 书 讯 •

《腹膜外剖宫产术》已出版

本书由彭鹏主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-81060-857-2,16开,定价70.00元。

本书详细、系统地介绍了腹膜外剖宫产术有关的临床解剖、各种术式的优缺点、入路、操作方法和手术技巧。特别是手指分离法腹膜外剖宫产术是目前国内外广泛采用的暴露好、损伤少,对母婴健康干扰极小的一种术式,具有简便、安全、省时、无并发症等优点。本书可帮助青年产科医师提高手术技巧,避免因剖宫产手术不当或失误造成的副损伤及其他术后并发症,更好地为广大母婴的健康服务。

本书可作为医学生进入临床实践的入门参考书,也适合中、高级产科医务工作者和医学院校师生阅读参考。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595

<http://www.smmup.com>