

论 著

(基础研究)

人参皂苷 Rg1 纳米颗粒的构建、表征和体外功能研究

沈俊逸, 赵智明, 刘春丽, 壮雨雯, 徐文俊, 蔡 辉

【摘要】 目的 制备装载人参皂苷 Ginsenoside Rg1(Rg1)的纳米药物载体,并进行纳米药物载体的粒径、分散度和 Zeta 电势的表征,检测药物体外缓释效果,并检测对脑血管内皮体外功能的影响。**方法** 载药系统以聚谷氨酸为骨架,包裹单体 Rg1,同时偶联了转铁蛋白受体的单克隆抗体(OX26),制备载药系统(PHRO)。利用动态纳米粒度仪检测载药系统的纳米尺寸、分散系数和 Zeta 电势。透射电镜检测纳米载药系统的形态和尺寸。体外透析的方法检测 Rg1 从纳米载药系统中的缓释效果。体外利用 Trans-well 实验检测 PHRO 对内皮细胞迁移能力的影响,利用流式细胞术检测 PHRO 的靶向功能,利用高效液相色谱仪检测 PHRO 通过体外血脑屏障的效果。**结果** 动态纳米粒度仪显示 PHRO 的平均尺寸是 (79 ± 18) nm,分散系数(PDI)是 0.18。透射电镜显示 PHRO 是椭圆形的其半径是 (89 ± 23) nm,同时 PHRO 还具有好的体外缓释功能。PHRO 能明显的促进内皮细胞的迁移能力,实现对血管内皮细胞的靶向功能,同时能穿越体外血脑屏障模型。**结论** 纳米载药系统(PHRO)具有良好的纳米尺寸,分散度比较小尺寸均一,具备良好的缓释效果,能显著促进内皮细胞迁移,具备穿越体外血脑屏障的潜力。

【关键词】 脑梗死;人参皂苷 Rg1;血脑屏障;转铁蛋白受体

【中图分类号】 R743 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2019)01-0001-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2019.01.001

Construction and characterization of ginsenoside Rg1 nanoparticles and its *in vitro* activity

SHEN Jun-yi, ZHAO Zhi-ming, LIU Chun-li, ZHUANG Yu-wen, XU Wen-jun, CAI Hui

(Department of Integrated of Traditional Chinese and Western Medicine, General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective The nanoparticle drug carrier that crosses the blood-brain barrier and loaded with Ginsenoside Rg1 (Rg1) was prepared. The nanoparticle size and Zeta potential were characterized. The *in vitro* drug release and the effect on the migration ability of cerebral vascular endothelial cells were detected. **Methods** A drug delivery system (PHRO) was prepared. The drug delivery system was based on polyglutamic acid as the skeleton, wrapping the monomer Rg1, and coupled with transferrin receptor the monoclonal antibody (OX26). The nano size, dispersion coefficient and Zeta potential of the drug loading system were detected by dynamic nanoparticle size analyzer. The morphology and size of nanoscale drug loading system were detected by transmission electron microscopy. The method of *in vitro* dialysis was used to detect the release effect of Rg1 from nanoscale drug delivery system. The effect of PHRO on the mobility of cerebrovascular endothelial cells (CECs) was detected by Trans-well assay, CECs target function of PHRO was detected by flow cytometry and the effect of PHRO through the blood brain barrier was detected by high performance liquid chromatography. **Results** Dynamic light scattering(DLS) show the average particle size of PHRO was (79 ± 18) nm and the polydispersity index (PDI) = 0.18. The transmission electron microscope(TEM) images showed that all nanoparticles were spherical with diameters of (89 ± 23) nm. PHRO was with sustained release manner and could promote the migration, realizes CECs targeting and pass through the blood brain barrier *in vitro*. **Conclusion** The nano drug delivery system (PHRO) has good nano size, small dispersion and uniform size. It has excellent sustained release effect and can significantly promote endothelial cell migration.

【Key words】 cerebral infarction; ginsenoside Rg1 nanoparticle; blood brain barrier; transferrin receptor

基金项目:国家自然科学基金(81803943)

作者单位:210002 南京,东部战区总医院中西医结合科(沈俊逸、赵智明、刘春丽、壮雨雯、徐文俊、蔡 辉)

通信作者:蔡 辉, E-mail: njzy_caihui@163.com

0 引言

脑梗死是一种常见的中枢神经系统疾病,主要是由于供应脑部血液的动脉出现粥样硬化和血栓造成,使管腔狭窄甚至闭塞,最终导致急性脑供血不足而发病。脑梗死是“发病率高、死亡率高、致残率高、复发率高,并发症多”的慢性疾病^[1-2]。目前我国脑梗死复发率高达 40%,很多患者频繁发生梗死,难以摆脱脑梗死的纠缠^[3]。脑梗死患者往往复发一次病情加重一次,甚至危及生命。血脑屏障(blood brain barrier, BBB)^[4-5]是由脑毛细血管内皮细胞及其周围的星形胶质细胞、周细胞及基底膜等组成的功能性生理屏障。脑组织的毛细血管内皮细胞连接相当紧密,同时其胞饮作用减弱,内皮细胞还缺少微孔,这些生理结构可以防止脑组织受到外界物质的侵害^[6-7]。同时这样的生理结构也很大程度上限制了药物向脑组织转运及对脑部疾病的治疗^[3]。人参皂苷 Rg1 具有很好的促进血管新生和神经细胞增殖修复的作用,但是大量的实验证实,Rg1 无法通过血脑屏障实现良好的脑疾病的治疗作用^[8-9]。纳米载药系统能够实现对药物的缓释和靶向输送^[10-12],可以增加药物的脑内传递和释放。纳米载药系统还可以非侵袭的方式将药物递送到脑内,能够克服外科手术的风险和创伤,是新的研究热点。血脑屏障中存在大量转铁蛋白受体,转铁蛋白受体能够通过受体介导的内吞作用将纳米微粒转运到脑内。单克隆抗体 OX26 能够特异性识别转铁蛋白受体,大量的实验证明这种单克隆抗体偶联的纳米材料,可以将材料运输到脑组织内^[5, 13]。本研究将构建纳米载药系统,进行载药系统的表征,利用大鼠脑微血管内皮细胞并检测其体外活性。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料 聚谷氨酸购买于紫金港生物;水溶性碳二亚胺(EDCI)、L-苯丙氨酸乙酯和双抗(青霉素和链霉素)购买于 Sigma 公司;8.0 μm 的 transwell 小室购买于 Corning 公司(NY, USA);人参皂苷 Rg1 购买于上海原叶生物;大鼠脑微血管内皮细胞和内皮细胞培养基(endothelial cell medium, ECM)购买于 ScienCell 公司,OX26 单克隆抗体购买于 Abcam 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 纳米靶向材料的制备 两亲性的聚谷氨酸(PGA)和 L-苯丙氨酸乙酯(L-PAE)共聚物参照 Akaga 方法^[14]。PGA 有大量的亲水基团羧基,L-PAE 可以作为疏水基团。3.12 g 的 L-PAE 与 2 g 小分子的 PGA(30K)在酰胺化催化剂 EDCI 的作用下室温反应发挥缩合,反应 24 h,形成共聚物(PGA-PAE)。20 mg 共聚物(PGA-PAE)与 5 mg 的 Rg1 溶解混合在 DMSO 中,然后缓慢滴加到水相中,并不断搅拌,能够装载疏水分子 Rg1 形成纳米载药系统(PHR)。纳米载药系统(PHR)通过离心(12 000 r/min, 10 min)富集,未装载的药物 Rg1 被去除。10 mg PHR 与 1 mL OX26 单克隆抗体(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)在 EDCI 的作用下进行偶联,形成靶向材料 PHRO,未偶联的 OX26 单克隆抗体通过离心(12 000 r/min, 10 min)去除。

1.2.2 动态纳米粒度仪检测 PHRO 的尺寸和分散系数 PHRO 样品存放在去离子水中,制备成 1 mg/mL 样品,上样 500 μL 到激光动态纳米粒度仪(DLS, Malvern, UK)中,温度控制在 25 $^{\circ}\text{C}$,检测 3 批样本,计算平均纳米尺寸。同时进行多分散系数(PDI)和 Zeta 电势的检测。

1.2.3 透射电镜检测 PHRO 的尺寸和形态 将 1 mg/mL 的 PHRO 样品滴到电镜制备铜网之上,37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干。用 0.1% 的醋酸双氧铀溶液染色 30 min,水洗,烘干,进行透射电镜检测(JEOL, Tokyo, Japan)

1.2.4 PHRO 的药物包裹率检测 为了将 Rg1 从 PHRO 中释放出来,将 5 mg PHRO 溶解在 1 mL 的丙酮中。在 40 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下用旋转蒸发仪将有机相蒸干,添加了 2 mL 乙醇溶解剩余物。为了检测 PHRO 中包裹 Rg1 的含量,用高效液相层析仪(HPLC, Agilent 1100, Palo Alto, CA, USA)来检测。选用反向的 Lichrospher ODS C18 柱子,流动相为 0.02 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 醋酸钠溶液和甲醇(80:20, V/V),流速控制在 1 mL/min,检测波长为 203 nm,柱温控制在 30 $^{\circ}\text{C}$ 。包裹率定义为 $EE = M_1/M_2$, M_1 代表 PHRO 中的 Rg1 的质量, M_2 代表参与包裹实验的 Rg1 的总质量。

1.2.5 PHRO 的缓释实验 5 mL 的 PHRO(Rg1 等同于 1 mg/mL)和 5 mL Rg1(1 mg/mL)分别添加到透析袋中(相对分子质量 10 000)。然后将透析袋

沉浸在含有 50 mL 的等渗盐水或者 PBS 的烧杯中,然后将烧杯放置到摇床上(150 rpm, 37 ℃)。在相应的时间点取出 500 μ L 的外透析液,同时添加等体积的等渗盐水或者 PBS。Rg1 的含量通过 HPLC 的方法进行检测。取 20 μ L 的外透析液,上样到 HPLC 仪中,检测方法同上。

1.2.6 PHRO 促进内皮细胞的迁移实验 利用嵌套小室(Trans-well, 8 μ m)检测 PHRO 对脑血管内皮细胞的迁移能力的影响。大鼠脑血管内皮细胞系 RBE4 细胞(5×10^4)接种到小室的上层,含有内皮细胞培养基和 10% 的胎牛血清和 1% 的双抗。RBE4 细胞与 PBS(对照组)、10.0 μ mol/L Rg1(R 组)或者 PHRO(Rg1 含量为 10.0 μ mol/L, P 组)分别孵育。孵育 24 h 后,用 4% 多聚甲醛固定细胞,同时用吉姆萨(Giemsa)染色液染色 30 min, PBS 洗 3 次。在倒置显微镜下观察,并随机选择 3 个视野进行细胞迁移统计。

1.2.7 脑内皮细胞靶向功能检测 流式细胞术是检测分子对细胞靶向性的重要研究方法,我们用流式细胞术检测 PHRO 对 RBE4 的靶向能力。将异硫氰酸荧光素(FITC)荧光分子标记到 PHRO 和 PHR 纳米载体上。RBE4 细胞表面高表达转铁蛋白受体,能够与 PHRO 上的抗体相偶联实现受体介导的细胞靶向作用。将 RBE4 细胞(1×10^6)分别接种到 6 孔板中过夜使细胞贴壁。分别用 PBS(10 μ L, 对照组), Rg1(10.0 μ mol/L, Rg1 处理组), FITC 标记的 PHR(含量同 PHRO, PHR 处理组)和 FITC 标记的 PHRO(含有 10.0 μ mol/L Rg1, PHRO 处理组)处理 RBE4 细胞 30 min 后用 PBS 漂洗细胞 3 次,换新鲜的内皮细胞培养基继续培养 12 h。用 0.25% 胰酶消化细胞,离心收集细胞,将细胞上样到流式细胞仪(美国 BD),收集 1×10^4 个细胞,检测每组细胞的平均荧光强度。

1.2.8 体外血脑屏障模型 Rg1 和 PHRO 穿越体外 BBB 的能力通过 0.4 μ m 的 transwell 嵌套小室检测,0.4 μ m 的孔径只能允许小分子穿过,细胞无法穿越。脑内皮细胞紧密接种于上室中,模拟血脑屏障。PBS 处理组作为对照组。将 RBE4(4×10^5)接种到 Transwell 中(含有内皮细胞培养基和 10% 的胎牛血清和 1% 的双抗),将细胞在 37 ℃ 的培养箱内孵育 24 h,使细胞形成致密的连接,模拟体外 BBB

模型。分别将 10 μ L 的 PBS, 100 μ mol/L 的 Rg1 和 PHRO(含 100 μ mol/L Rg1)添加到小室中。5 h 后收集嵌套小室的下室培养基,进行 HPLC 检测 Rg1 的含量,检测方法参照 PHRO 的药物包裹率检测。

1.3 统计学分析 实验数据利用 SPSS 16.0 进行分析,各实验组数据差异性均以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,不同组之间的比较采用 One-ANOVA 分析,组内比较用 LSD 方法,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PHRO 具有良好的纳米尺寸和分散系数 DLS 结果显示 PHRO 的平均尺寸为(79 \pm 18) nm,分散系数为 0.18, PHRO 的 Zeta 电势为 38 mV,见图 1。透射电镜结果显示纳米颗粒为椭圆形,平均半径为(89 \pm 23) nm,见图 2。透射电镜的结果与 DLS 的结果相似,进一步证明了纳米颗粒的尺寸和分散性。

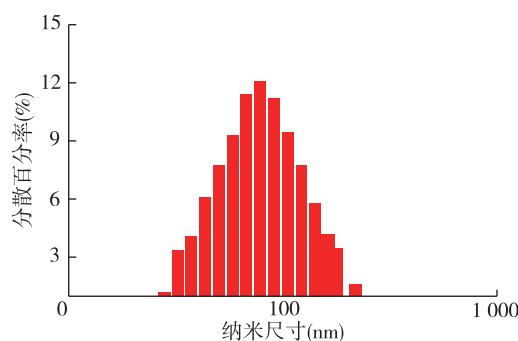


图 1 动态纳米粒度仪(DLS)检测纳米载药系统(PHRO)的尺寸分布

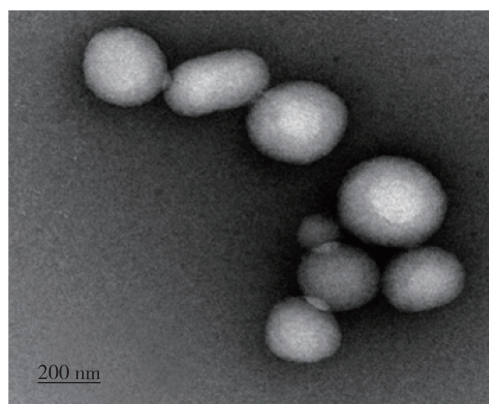


图 2 透射电镜检下纳米载药系统(PHRO)的纳米形态

2.2 PHRO 具备良好的 Rg1 装载率和装载量 HPLC 结果显示, PHRO 中 Rg1 的包裹率 EE 为 59.6%, Rg1 的水溶性差, 高分子材料 PHRO 显著提高了 Rg1 的

水溶性,高的 Rg1 包裹率能显著提高药物的稳定性,增加血药浓度的作用时间,避免药物的快速降解,同时可以减少给药次数增加患者的依从性。

2.3 PHRO 具备良好的缓释功能 通过透析的方法检测 PHRO 的体外药物缓释实验,Rg1 的半数释放时间(half-maximal release time, $t_{1/2}$)为 1.5 h,然而 PHRO 的 $t_{1/2}$ 为 29 h。6 h 后,Rg1 释放了 81%,然而只有 35% Rg1 从 PHRO 中释放出来,120 h 后 85% 的 Rg1 从 PHRO 中释放出来,见图 3。缓释结果显示单纯的 Rg1 存在快速释放的现象,而 PHRO 具备缓释的特点。与快速释放的剂型相比缓释剂型更有力于维持良好的血药浓度和药物稳定性。

2.4 PHRO 能够促进内皮细胞的迁移 嵌套小室的方法检测了内皮细胞的迁移能力,细胞的迁移能力越强,在嵌套小室的下室中能够观察到的细胞数目越多。与对照组比较,R 组内皮细胞经过 10 $\mu\text{mol/L}$ Rg1 孵育后,迁移能力显著增强 ($P<0.01$)。然而 P 组内皮细胞经过 PHRO 的孵育后,内皮细胞的迁移能力较 Rg1 更加显著 ($P<0.01$)。见图 4。

2.5 PHRO 能够实现脑血管内皮细胞的靶向 对照组平均荧光强度为 2.1,Rg1 处理组为 5.1,PHR 处理组为 9.1,PHRO 处理组为 68.2。经过 PHRO 处理后细胞的荧光强度显著增强,显著高于其他组。见图 5。

2.6 PHRO 能够穿越体外血脑屏障模型 经过 HPLC 检测显示,只有 4.17% 的 Rg1 能够通过 BBB 体外模型可以被检测到,然而经过 PHRO 处理,有 35.7% 的 Rg1 能够通过体外血脑屏障模型。

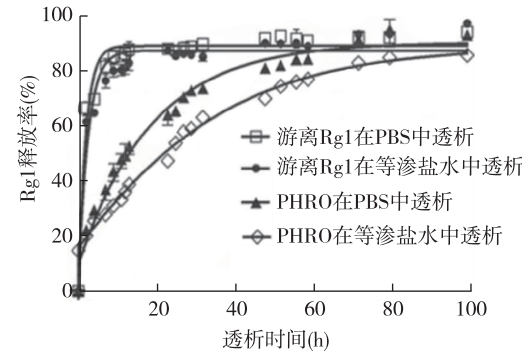
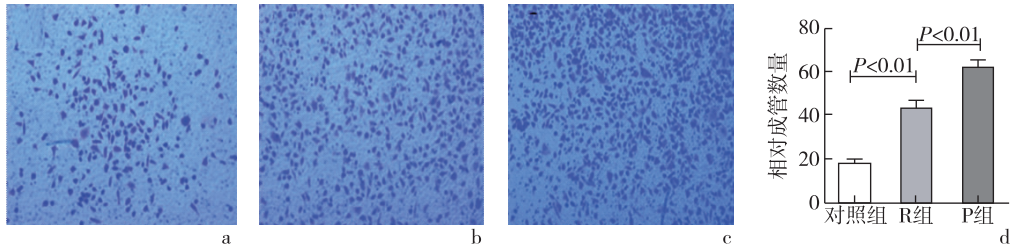
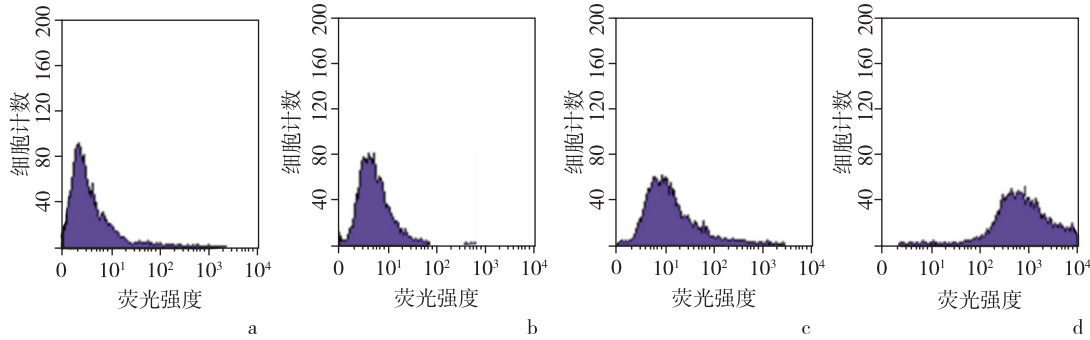


图 3 纳米载药系统 (PHRO) 的缓释实验



a,b,c 分别为 transwell 嵌套小室检测对照组、R 组 (Rg1 处理)、P 组 (PHRO 处理) 内皮细胞迁移镜下观察 (吉姆萨染色 $\times 200$); d: 相对成管数量统计

图 4 纳米载药系统 (PHRO) 对大鼠脑血管内皮细胞迁移能力的影响



a: 对照组; b: Rg1 处理组; c: PHR 处理组; d: PHRO 处理组

图 5 流式细胞术检测 PHRO 的细胞靶向能力

3 讨 论

脑梗死发生后梗死组织内血管组织损伤严重,微血管稀疏,侧支循环能力差,如梗死组织长期供血不足,则愈合能力低。梗死组织局灶炎性细胞聚集,炎性因子高表达会进一步导致缺血组织的损伤和坏死。溶栓药物是美国 FDA 唯一批准用于缺血性卒中的血管再通药物^[15]。然而,只有 4%~7% 的早起早期脑梗死缺血性脑卒中患者(脑梗死 4.5 h 内)使用该药物具有疗效;即使早期使用溶栓药物,血管再通率也只有 40%~50%^[16]。脑梗死的治疗手段比较有限,制备能够穿越血脑屏障的神经保护剂来增强神经元对缺血损伤的耐受性,从而改善脑梗死的预后具有重要的研究价值。两亲性高分子载体材料一端具有亲水性,另一端具有亲脂性,亲脂的性质可以使载体材料包裹一些脂溶性物质,而亲水的性质可以使得被包裹的物质具有很好的水化层。这样一方面可以提高难溶于水或者水溶性差的物质的水溶性;另一方面,可以提高包裹物质的稳定性,其在体内运输时还可以避免粘附到血清白蛋白等分子上,造成药效的下降。本实验中使用的聚谷氨酸^[17-19],具有很高的水溶性,可以在溶液中形成良好的水化层,提高一些疏水分子的水溶性且无免疫原性,代谢产物对人体也无毒害。Rg1 具有良好的促进血管新生和神经保护的功能,但其水溶性低,在体内容易被降解,半衰期短,同时 BBB 限制了 Rg1 的入脑^[20],我们制备了一种偶联转铁蛋白单克隆抗体的纳米载药系统,具备穿越体外血脑屏障模型。PHRO 具有良好的纳米颗粒尺寸,用于脑内药物的递送系统直径通常在 100~300 nm 之间,即均可获得较好的入脑效果。在保证药物稳定性的前提下,越小的 NPs 的粒径的 NPs 其能够实现更高的纳米颗粒穿越血脑屏障进入脑组织的作用能力就越强。本实验中我们制备的纳米药物的尺寸都在 100 nm 以下,其对脑组织的富集作用具有尺寸上的优势,这有利于纳米颗粒通过体内小的血管和孔径组织又不至于被肾脏过滤系统清除掉。分散系数(PDI)是用于表示高分子分散度的系数,PDI 越小越低证明分子的分散度越好,尺寸均一性越好。PDI<0.3 认为具有很好的高分子分散系数。DLS 和透射电镜的结果显示这种纳米载药系统尺寸均一,并且具有良好的 Zeta 电势,良好的 Zeta 电势

可以维持纳米颗粒在水相中的稳定性,越强的 Zeta 电势越能维持良好的分散性,不容易出现药物的沉淀。比较高的 Rg1 包过率,不但提高了 Rg1 的水溶性,同时可以降低 Rg1 的给药次数,提高患者的依从性。缓释剂型对维持血药稳定性具有重要的意义^[22],PHRO 还有良好的药物缓释功能。急性脑梗死后血管内皮细胞的迁移能力越强对神经保护和神经新生有很好的作用^[23-24]。经过 PHRO 的孵育内皮细胞的迁移能力显著增强,并且迁移能力比游离的 Rg1 的还要高。这可以解释为,可是由于转铁蛋白受体介导的内吞作用,使更多的 Rg1 快速进入内皮细胞,增强了内皮细胞的迁移能力。PHRO 显示出良好的体外脑血管内皮细胞的靶向作用,Rg1 在脑梗死的病理状态下发挥着良好的神经和血管的保护作用,但是 Rg1 在体内的半衰期短,水溶性差,血药浓度低,而且不具备脑部靶向性,制备具有脑部靶向性的 Rg1 纳米载药系统可以实现在脑组织内高度富集,增强治疗效果。体外 BBB 模型也显示出 PHRO 能够穿越体外 BBB。只实现对脑组织的靶向性,但是无法穿越 BBB 仍然无法发挥脑梗死后对神经系统的保护和恢复作用,HPLC 的检测结果显示 PHRO 能够显著地穿越体外血脑屏障模型,这将促进 Rg1 在恢复脑梗死中的临床应用。本研究对 PHRO 纳米载药系统的进行了表征,PHRO 显示出良好的体外生物活性,但是其体内生物活性还需要进一步验证。

[参考文献]

- [1] Chen CH, Chang YJ, Sy HN, *et al.* Risk assessment of the outcome for cerebral infarction in tuberculous meningitis [J]. *Rev Neurol*, 2014, 170(8-9): 512-519.
- [2] Choi HY, Lee KM, Kim HG, *et al.* Role of Hyperintense Acute Reperfusion Marker for Classifying the Stroke Etiology [J]. *Front Neurol*, 2017, 8(630): 1-14.
- [3] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2016, 133(4): e38-360.
- [4] Shen HH. Core Concept: Circumventing the blood-brain barrier [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(43): 11261-11263.
- [5] Greenwood J, Hammarlund-Udenaes M, Jones HC, *et al.* Current research into brain barriers and the delivery of therapeutics for neurological diseases: a report on CNS barrier congress London, UK, 2017 [J]. *Fluids Barriers CNS*, 2017, 14(1): 1-2.
- [6] Ergul A, Alhusban A, Fagan SC. Angiogenesis: a harmonized

- target for recovery after stroke [J]. *Stroke*, 2012, 43 (8): 2270-2274.
- [7] Arfors KE, Rutili G, Svensjö E. Microvascular transport of macromolecules in normal and inflammatory conditions [J]. *Acta Physiol Scand Suppl*, 1979, 463:93-103.
- [8] 刘 恣, 张均田. 人参皂甙 Rb₁ 和 Rg₁ 对原代培养大鼠海马神经细胞的保护作用[J]. *药学学报*, 1995, 39(9): 674-678.
- [9] Xie CL, Li JH, Wang WW, *et al.* Neuroprotective effect of ginsenoside-Rg1 on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by downregulating protease-activated receptor-1 expression [J]. *Life Sci*, 2015, 121:145-151.
- [10] Zhang L, Wang T, Li Q, *et al.* Fabrication of novel vesicles of triptolide for antirheumatoid activity with reduced toxicity in vitro and in vivo [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11:2663-2673.
- [11] Geng X, Ye H, Feng Z, *et al.* Synthesis and characterization of cisplatin-loaded, EGFR-targeted biopolymer and in vitro evaluation for targeted delivery [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2012, 100(10): 2839-2848.
- [12] Zhang L, Geng X, Zhou J, *et al.* Fabrication of poly(γ -glutamic acid)-based biopolymer as the targeted drug delivery system with enhanced cytotoxicity to APN/CD13 over-expressed cells [J]. *J Drug Target*, 2015, 23(5): 453-461.
- [13] Liu R, Wang S, Fang S, *et al.* Liquid Crystalline Nanoparticles as an Ophthalmic Delivery System for Tetrandrine: Development, Characterization, and In Vitro and In Vivo Evaluation [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2016, 11(1): 11-13.
- [14] Akagi T, Higashi M, Kaneko T, *et al.* Hydrolytic and enzymatic degradation of nanoparticles based on amphiphilic poly(γ -glutamic acid)-graft-L-phenylalanine copolymers [J]. *Biomacromolecules*, 2006, 7(1): 297-303.
- [15] Mangi MA, Rehman H, Bansal V, *et al.* Ultrasound Assisted Catheter-Directed Thrombolysis of Acute Pulmonary Embolism: A Review of Current Literature [J]. *Cureus*, 2017, 9(7): 1-12.
- [16] Uyttenboogaart M. Is there still a role for intravenous thrombolysis in the era of mechanical thrombectomy in patients with acute intracranial large artery occlusions? [J] *Eur J Neurol*, 2018.doi: 10.1111/ene.13871.
- [17] van den Hoven JM, Van Tomme SR, Metselaar JM, *et al.* Liposomal drug formulations in the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(4): 1002-1015.
- [18] Thomas TP, Goonewardena SN, Majoros IJ, *et al.* Folate-targeted nanoparticles show efficacy in the treatment of inflammatory arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(9): 2671-2680.
- [19] Bajaj I, Singhal R. Poly (γ -glutamic acid)-an emerging biopolymer of commercial interest [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(10): 5551-5561.
- [20] Shen J, Zhao Z, Shang W, *et al.* Ginsenoside Rg1 nanoparticle penetrating the blood-brain barrier to improve the cerebral function of diabetic rats complicated with cerebral infarction [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12:6477-6486.
- [21] Bhattacharjee S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? [J] *J Control Release*, 2016, 235:337-351.
- [22] 陈 昕, 郭志良, 肖露露, 等. 依达拉奉对大鼠脑栓塞后炎症体 Nod 样受体蛋白 3 及血脑屏障相关蛋白的影响 [J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(11): 1137-1141.
- [23] 沈俊逸, 赵智明, 刘春丽, 等. OX26 单克隆抗体耦联的人参皂苷 Rg1 纳米载药系统促进脑梗死后血管和神经新生的实验研究 [J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(4): 398-403.
- [24] 陈 昆, 刘丽娟, 韩德昌, 等. 扩大血管周围间隙对急性前循环轻型卒中预后的影响 [J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(7): 719-721.

(收稿日期: 2018-03-15; 修回日期: 2018-12-19)

(责任编辑: 叶华珍; 英文编辑: 吕锋烽)