

# 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯胶束对盐酸特比萘芬滴眼液角膜吸收的促进作用

周天洋 夏慧芸 何继军 张俊杰

450003 郑州,河南省眼科研究所 河南省立眼科医院

通信作者:张俊杰,Email:zhangjj66@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.11.011

**【摘要】** **背景** 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(HS15)是一种低毒性的新型非离子型表面活性剂,广泛用于难溶性药物的增溶,载药量高并能够促进上皮组织对药物的吸收,有助于难溶性抗真菌药物眼部局部用药后的角膜传递,但目前其对抗真菌药物盐酸特比萘芬(TH)眼部应用后的促吸收作用及其对眼组织有无刺激性尚不清楚。**目的** 研究 HS15 胶束(HNMs)对 TH 的促角膜吸收作用及局部刺激性。**方法** 采用共溶剂法制备质量分数 0.5% TH-HNMs,用光散射粒度分析仪测定胶束的粒径及 Zeta 电位,采用透射电子显微镜(TEM)观察胶束的形态,采用高效液相色谱法(HPLC)测定 TH 包封率及不同 pH 条件下胶束中 TH 的累积释放量。取普通级健康雄性新西兰白兔 5 只,用 0.5% TH-HNMs 点眼后行兔眼刺激性试验。另取新西兰白兔 90 只,采用随机数字表法随机分为对照组和实验组,均以右眼作为用药眼。实验组用 50  $\mu$ l TH-HNMs 点右眼,对照组用 50  $\mu$ l 0.5% TH 油剂点右眼。分别于点眼后 5、15、30、60、90、120、180、240 和 360 min 经兔耳缘静脉注射过量质量分数 4% 戊巴比妥钠溶液处死实验兔,剖取角膜组织后采用 HPLC 法测定角膜组织中 TH 质量分数。**结果** 制备的 TH-HNMs 平均粒径为 13.32 nm,多分散系数为 0.046,Zeta 电位为 -0.133 mV。TH-HNMs 药物包封率为 100%。TH 体外释放速度呈 pH 依赖性,6 h 后在 pH 5.0 的磷酸盐缓冲液中累积释放量达(95.20 $\pm$ 3.20)% ,在 pH 7.4 的缓冲液中累积释放量仅为(0.17 $\pm$ 0.01)%。0.5% TH-HNMs 点眼后兔眼组织刺激性评分均低于 2 分,眼部组织未发现任何损伤。0.5% TH-HNMs 点眼后角膜中药物达峰时间均为 5 min,达峰质量分数为(20.26 $\pm$ 2.26)  $\mu$ g/g,显著高于对照组的(1.40 $\pm$ 0.44)  $\mu$ g/g,差异有统计学意义( $t=18.926,P=0.000$ )。实验组兔眼给药后药-时曲线下面积(AUC)<sub>0-360 min</sub>为 1 292.25  $\mu$ g/(g $\cdot$ min),是对照组的 15.6 倍。**结论** TH-HNMs 的制备工艺简单,包封率高,粒径小,无眼部刺激性,与 TH 油剂相比,点眼后能够显著促进 TH 在兔眼角膜的吸收。

**【关键词】** 化学药物制备; 药物传递系统/方法; 聚乙二醇/药代动力学; 微胶粒; 盐酸特比萘芬/药代动力学; 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯; 角膜吸收; 兔

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(1404832)

## Promoting effects of macrogol 15 hydroxystearate micelles on corneal absorption of terbinafine hydrochloride

Zhou Tianyang, Xia Huiyun, He Jijun, Zhang Junjie

Henan Eye Institute, Henan Eye Hospital, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Zhang Junjie, Email: zhangjj66@126.com

**【Abstract】** **Background** Macrogol 15 hydroxystearate (HS15) is a novel soft non-ionic surfactant and is widely used to solubilize the poorly soluble drugs due to high drug loading and enhancing permeability ability to hydrophobic drug. However, the delivering effects to cornea of HS15 on terbinafine hydrochloride (TH), a insoluble antifungal agents, is unclear. **Objective** This study was to investigate the promoting corneal absorption effects of HS15 micelles (HNMs) on TH. **Methods** TH-HNMs was prepared by a co-solvent method. The hydrodynamic droplet size, polydispersity index, and Zeta potential of TH-HNMs were measured by using a Zetasizer. The shape of the micelles was observed under the transmission electron microscope. The high performance liquid chromatography (HPLC) was employed to detect the *in vitro* cumulative releasing level of TH in the TH-HNMs and drug entrapment efficiency. TH-HNMs was topically administered in eyes of 5 healthy male New Zealand rabbits to evaluate the ocular irritation response. Ninety rabbits were randomized into experimental group and control group, and 50  $\mu$ l of 0.5% TH-HNMs and 0.5% oily TH were topically administered in the right eyes of the animals in the experimental group and control group, respectively. The animals were sacrificed 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 minutes after eye dropping

by over anesthetization way and the corneas were harvested, and the TH content in the cornea was detected using HPLC. The study protocol was approved by Life Science Ethic Committee of Henen Eye Hospital. **Results** The average size and polydispersity index of TH-HNMs were 13.32 nm and 0.046, respectively, and its average Zeta potential was  $-0.133$  mV. The drug entrapment efficiency was 100%. The release level of TH from the micelles presented a pH-dependent manner. The release level of TH was  $(95.20 \pm 3.20)\%$  in the phosphate buffer with pH 5.0 and  $(0.17 \pm 0.01)\%$  in the phosphate buffer with pH 7.4. The ocular irritation score was 2, and no visible damage was found around experimental eyes after instillation of TH-HNMs. The peak content of TH in the rabbit cornea 5 minutes was  $(20.26 \pm 2.26) \mu\text{g/g}$  in the experimental group, which was significantly higher than  $(1.40 \pm 0.44) \mu\text{g/g}$  in the control group ( $t = 18.926, P = 0.000$ ). The area under the curve (AUC)<sub>0-360 min</sub> of drug concentration-time curve in the experimental group was  $1292.25 \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$ , which was 15.6 times more than the control group. **Conclusions** TH-HNMs is an ideal agent with a simple preparing process, high drug entrapment efficiency, small size and low ocular irritation. Compared with oily TH, TH-HNMs can effectively enhance the corneal absorption of TH.

**[Key words]** Chemistry, pharmaceuticay; Drug delivery systems/methods; Polyethylene glycols/pharmacokinetics; Micelles; Terbinafine hydrochloride/pharmacokinetics; Macrogol 15 hydroxystearate; Corneal absorption; Rabbit

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (1404832)

15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯 (macrogol 15 hydroxystearate, HS15) 是一种新型的非离子型表面活性剂, 生物相容性好, 多用于难溶性药物的增溶及跨黏膜转运<sup>[1-2]</sup>。HS15 细胞毒性低, 生物相容性好, 可形成直径为 13 ~ 14 nm 的胶束, 在常用的几种生理缓冲液中粒径非常稳定<sup>[3]</sup>。除了能够形成热力学稳定的胶束外, HS15 还可以抑制 P-糖蛋白, 改变细胞膜通透性, 影响上皮细胞之间的紧密连接, 从而增加药物的跨细胞转运以及经细胞旁路的扩散<sup>[3-5]</sup>。盐酸特比萘芬 (terbinafine hydrochloride, TH) 属于烯丙胺类抗真菌药物, 对眼部分离的镰刀菌具有很强的抑制作用<sup>[6-7]</sup>, 但由于 TH 亲脂性强, 传统的用药常用油溶液制剂, 给药后眼部组织吸收不理想, 限制了其在真菌性角膜炎临床治疗中的应用。研究发现, 将 TH 装载于纳米粒或纳米乳等纳米给药系统后可明显改善局部组织对 TH 的吸收<sup>[8-10]</sup>。HS15 胶束 (HS15 micelles, HNMs) 的粒径比上述纳米给药系统更小, 且有更好的热力学稳定性, 并具有促进上皮吸收的特点, 理论上其促进药物眼部吸收的作用应优于上述纳米给药系统, 但目前鲜见相关研究报道。本研究拟采用 HNMs 作为 TH 的载体, 观察其对角膜吸收 TH 的促进作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 普通级健康雄性新西兰白兔 95 只 (购自新乡华兰生物工程有限责任公司), 体质量 2.1 ~ 2.5 kg, 动物饲养于河南省食品药品检验所动物房, 实验期间实验兔自由进食和饮水。实验前经外观检查、荧光素钠染色和钴蓝光照射下以手持裂隙灯显

微镜检查角膜上皮完整, 免角膜结构均无异常。本研究方案经河南省立眼科医院生命科学伦理审查委员会审核批准 (批文号: HNEECA-2014-01)。

**1.1.2 主要试剂及仪器** TH (山东铂源药业有限公司); HS15 (德国巴斯夫公司); 甘油 (南昌白云药业有限公司); 蓖麻油 (湖北科田药业有限公司)。JEM 1230 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); Nano ZS-90 型纳米粒度仪 (Zetasizer, 英国马尔文公司); 2695 高效液相色谱仪 (high performance liquid chromatography, HPLC) (美国 Waters 公司); 5810 R 高速离心机 (德国 Eppendorf 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 TH-HNMs 的制备** 取清洁干燥烧杯, 加入 HS15 2.5 g、甘油 2.0 g 和 TH 0.5 g, 搅拌均匀, 加热至 65 °C, 搅拌至药物完全溶解, 放冷至室温, 搅拌下加入约 80 °C 的热水 95 ml, 充分搅拌, 放冷, 用质量分数 1% NaOH 调节 pH 至 7.0, 加水至 100 ml。用针头式无菌过滤器 (滤膜孔径 0.22 μm, 爱尔兰 Merck Millipore 公司) 过滤后获取微蓝色透明载药胶束溶液。透射电子显微镜下观察 TH-HNMs 形态, 采用纳米粒度仪测定胶束粒径及 Zeta 电位。另取 TH 0.5 g 加入 100 ml 蓖麻油中, 搅拌均匀, 缓慢加热至完全溶解, 制备质量分数 0.5% TH 蓖麻油溶液。

**1.2.2 TH-HNMs 药物包封率的测定** 取 TH-HNMs, 以甲醇稀释后进行 HPLC 分析 (色谱柱: Waters X-Bridge C<sub>18</sub>, 3.5 mm, 3.0 mm × 150.0 mm; 流动相: V<sub>甲醇</sub> : V<sub>水</sub> = 92 : 8; 流速: 0.7 ml/min; 柱温为 40 °C; 检测波长为 283 nm; 进样量为 20 μl, 测定溶液中 TH 的总浓度 (C<sub>t</sub>)。另取 TH-HNMs 溶液置于超滤器 (Ultra-4, 截留

相对分子质量为 50 000), 离心半径 17.8 cm, 4 000 r/min 离心 10 min。滤液与等体积甲醇混合后振荡, 离心半径 9.5 cm, 12 000 r/min 离心 8 min, 取上清, HPLC 测定游离 TH 质量浓度 ( $C_f$ ), TH 的包封率按下列公式计算: 包封率 (%) =  $(C_i - C_f) / C_i \times 100\%$ 。

**1.2.3 体外释放试验** 取 pH 5.0、pH 6.0 和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液各 198 ml 作为释放液, 取透析袋(截留相对分子质量为 14 000), 加入药液 2 ml, 两端封口, 没于释放液中, 34 °C 条件下置水平摇床上 150 r/min 振荡, 然后分别于 0.25、0.5、1、2、4 和 6 h 后取出释放液 1 ml, 并加入相同体积的新鲜磷酸盐缓冲液。样品于 -70 °C 冰箱保存备用。测定时精密吸取样品, 加入 2 倍体积的甲醇, 涡旋振荡 1 min, 离心半径 9.5 cm, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, HPLC 检测 TH 的含量。

**1.2.4 眼刺激性试验** 参照国家食品药品监督管理局 2014 年颁布的《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》中“眼刺激性试验”中描述的方法行眼刺激性试验。取 5 只新西兰白兔, 右眼给予 TH-HNMs 滴眼液 100  $\mu$ l, 左眼用 100  $\mu$ l 生理盐水点眼, 点眼后轻轻闭合眼睑 30 s。分别于点眼后 1、2、4、8、24、48 及 72 h 于结膜囊内点荧光素钠溶液 1 滴, 钴蓝光照射下以手持裂隙灯显微镜检查角膜上皮完整性, 并行刺激性评分。根据刺激反应的严重程度, 刺激性评分各项评分依次递增, 角膜混浊程度从轻到重记为 0~4 分, 虹膜皱褶、出血及对光反应程度从轻到重记为 0~2 分, 按照结膜充血严重程度记为 0~3 分, 按照结膜水肿程度记为 0~4 分, 按照结膜囊分泌物多少记为 0~3 分; 将每个时间点每只兔眼各项刺激反应分值的和为总分, 每组评分总和除以动物数即眼刺激反应分值。按照眼刺激反应分值判定刺激程度, 0~3 分为无刺激, 4~8 分为轻度刺激, 9~12 分为中度刺激, 13~16 分为强度刺激。

**1.2.5 TH-HNMs 在兔眼中的药代动力学测定** 采用随机数字表法将 90 只新西兰白兔随机分为 2 个组, 每组 45 只, 均取右眼为实验眼, 左眼不作处理, 然后 2 个组兔分别分为 9 个时间点组, 每个时间点组 5 只。实验组用 TH-HNMs 溶液 50  $\mu$ l 点眼, 对照组用质量分数 0.5% TH 蓖麻油溶液 50  $\mu$ l 点眼, 按照时间点分组分别于点眼后 5、15、30、60、90、120、180、240 和 360 min 用生理盐水冲洗实验眼眼表, 经耳缘静脉注射过量质量分数 4% 戊巴比妥钠溶液处死实验兔, 剖取角膜, 生理盐水冲洗, 蘸干, 精密称量, -70 °C 冷冻保存备用。测定时参照文献[10]中的 HPLC 法进行分析。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件(序列号: 6034524388, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 进行统计分析。本研究检测指标的数据资料经 W 检验证实呈正态分布, 以  $\bar{x} \pm s$  表示, 经 Levene 检验方差齐(均  $P > 0.05$ )。采用完全随机分组单因素干预两水平研究设计, 实验组与对照组间兔眼角膜组织中药物质量分数的差异比较采用独立样本  $t$  检验。采用双尾检验法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TH-HNMs 的形态、粒径及 Zeta 电位

经 Zeatsizer 测定, TH-HNMs 平均粒径为 13.32 nm, 多分散系数为 0.046, TH-HNMs 粒径的分布较窄(图 1); TH-HNMs 平均 Zeta 电位为 -0.133 mV, 接近电中性。经 TEM 测定, TH-HNMs 的形态规则统一, 无粘连和聚集现象, 粒径大小与 Zeatsizer 测定结果一致(图 2)。

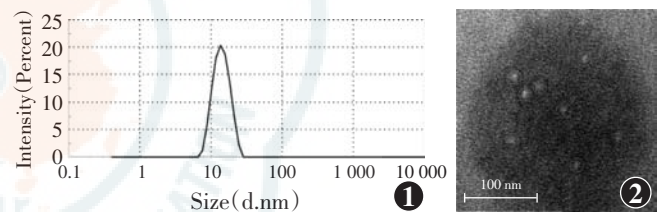


图 1 TH-HNMs 的粒径分布 TH-HNMs 平均粒径为 13.32 nm, 粒径分布范围为 6~30 nm 图 2 TH-HNMs 的 TEM 图像(标尺 = 100 nm)  
TH-HNMs 胶束形态规整, 无粘连

### 2.2 TH-HNMs 的包封率及体外释放

TH-HNMs 胶束溶液中 TH 总质量浓度为  $(4.83 \pm 0.09)$  mg/ml, 游离 TH 的质量浓度为  $(0.06 \pm 0.01)$   $\mu$ g/ml, 包封率为 100%。TH 的释放随着释放液 pH 的升高而变慢(图 3), 在 pH 5.0 磷酸盐缓冲液 6 h 内 TH 的累积释放量达  $(95.20 \pm 3.20)\%$ , 而在 pH 7.4 缓冲液 6 h 内 TH 的累积释放量仅为  $(0.17 \pm 0.01)\%$ 。

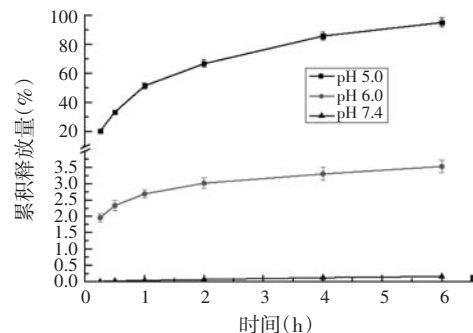


图 3 TH-HNMs 的体外释放曲线  
TH 的释放随着释放液 pH 的升高而变慢

### 2.3 TH-HNMs 的眼刺激性

生理盐水点眼后, 各时间点均未观察到显著的眼

部刺激性及其他异常反应,表明眼刺激性试验使用的试剂及操作对兔眼无刺激,不干扰试验结果。TH-HNMs 滴眼液点眼后,各时间点兔眼角膜、结膜及虹膜均未见异常,无角膜上皮荧光素染色,各时间点实验眼刺激反应评分均低于 2,可判定为 TH-HNMs 对兔眼无刺激(表 1)。

表 1 实验兔用药物点眼后不同时间点刺激反应评分

眼别	眼数	不同时间点刺激反应评分						
		1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h
右眼	5	0.8	1.0	0.8	1.0	0.6	0.6	0.4
左眼	5	0.8	0.8	0.6	0.8	0.4	0.6	0.4

注:右眼为 TH-HNMs 滴眼液点眼,左眼为生理盐水点眼

### 2.4 TH-HNMs 的兔眼药代动力学特征

2 个组兔眼点眼后角膜药物质量分数达峰时间均为 5 min。给药后 TH-HNMs 于 1 h 内消除速度较快,1 h 后消除速度变缓,TH 油剂的消除过程与 TH-HNMs 相似(图 4,表 2),2 种药物消除半衰期均为 110 min(表 3)。实验组兔眼点眼后各时间点的药物质量分数均高于对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )(表 2)。实验组兔眼角膜中 TH 峰质量分数为对照组的 14.5 倍,差异有统计学意义( $t = 18.926, P = 0.000$ );实验组兔眼中药物的  $AUC_{0-360 \text{ min}}$  为对照组的 15.6 倍(表 3)。

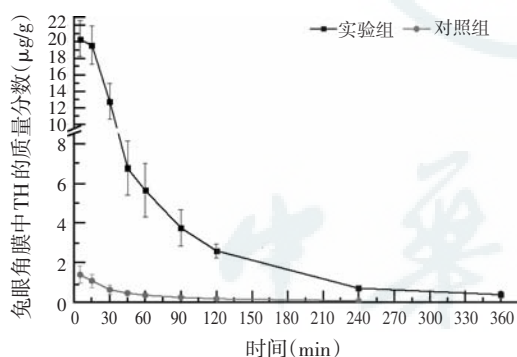


图 4 TH-HNMs 点眼后兔眼角膜药物的质量分数-时间曲线 点眼后 1 h 内 TH-HNMs 消除速度较快,1 h 后消除速度变缓,TH 油剂的消除过程与 TH-HNMs 相似

表 2 2 个组兔眼给药后各时间点角膜中药物质量分数的比较( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/g}$ )

组别	眼数	不同时间点兔眼角膜中药物质量分数								
		5 min	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min	240 min	360 min
实验组	5	20.26±2.26	19.57±2.33	12.76±2.17	6.77±1.35	5.65±1.33	3.76±0.92	2.61±0.35	0.72±0.08	0.39±0.15
对照组	5	1.40±0.44	1.09±0.34	0.64±0.25	0.47±0.08	0.36±0.08	0.25±0.07	0.18±0.05	0.08±0.02	-
t 值		18.926	17.554	12.402	10.392	9.001	8.525	11.785	10.749	
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	

注:-:检测不到(独立样本 t 检验)

表 3 2 个组兔眼给药后药物动力学参数的比较

组别	眼数	$C_{\text{max}}(\bar{x} \pm s, \mu\text{g/g})$	$T_{\text{max}}(\text{min})$	$t_{1/2}(\text{min})$	$AUC_{0-360 \text{ min}} [\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})]$	$AUC_{0-\infty} [\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})]$
实验组	5	20.26±2.26	5	111.9	1292.25	1435.67
对照组	5	1.40±0.44	5	103.8	82.78	97.71
t 值		18.926				
P 值		0.000				

注: $C_{\text{max}}$ :峰质量分数; $T_{\text{max}}$ :达峰时间; $t_{1/2}$ :半衰期;AUC:曲线下面积(独立样本 t 检验)

### 3 讨论

大多数抗真菌药物水溶性不好,难以制备成理想的眼部制剂,且这些药物的相对分子质量较大,局部用药后难以透过角膜上皮,加之泪液的冲洗作用,抗真菌药物在眼部的吸收较差,因此难以有效地发挥治疗作用,临床应用受到限制,故治疗真菌性角膜炎的药物制剂非常缺乏<sup>[11-12]</sup>。纳米给药系统为抗真菌药物在眼部的有效传递提供了新的途径,对改善抗真菌药物的眼部吸收具有重大意义。研究表明,纳米给药系统粒径越小,越容易被角膜上皮组织所吸收及在角膜基质中扩散<sup>[13-14]</sup>。HS15 细胞毒性低,生物相容性好,可形成直径为 13 ~ 14 nm 的胶束,粒径小于目前文献报道的大多数眼部抗真菌给药系统<sup>[15-17]</sup>,是一种理想的抗真菌药物眼部传递载体。

本研究中制备的 TH-HNMs 粒径仅约为 13 nm,表面电荷接近电中性,相对于阳离子纳米给药系统,电中性纳米载体的角膜前滞留时间较短,但是电中性的纳米载体却更容易向角膜上皮内部迁移,同时不易受到细胞外基质中各种带有负电荷的大分子的影响<sup>[18-19]</sup>。真菌性角膜炎一般会累及角膜深层组织,TH-HNMs 具有粒径小且几乎呈电中性的特点,有利于其向角膜内部组织渗透,对于真菌性角膜炎的治疗非常有优势。此外,很多眼部纳米给药系统还面临一个常见的困扰,即大部分纳米给药系统释放药物的速度较慢,在眼部滞留时间却十分有限,导致给药系统在清除前只能释放少量药物<sup>[20]</sup>,而药物释放太快又会带来渗漏的问题,

影响药物在储存过程中的物理稳定性。本研究中制备的 TH-HNMs 在中性介质中几乎不释放,在酸性介质中释放却十分迅速。纳米给药系统主要通过内吞作用和转胞吞作用介导的跨细胞转运途径进入角膜<sup>[21-22]</sup>,内吞过程中形成的胞内体以及溶媒体的内环境均呈酸性, pH 值为 5 ~

6<sup>[23]</sup>,也就意味着 TH-HNMs 在被上皮细胞内吞和转胞吞的过程中会快速释放 TH,而在储存过程中则几乎不会有 TH 渗漏,既保证了 TH-HNMs 的物理稳定性,也可使药物在被吸收后及时释放。

本研究结果显示,与 0.5% TH 油剂相比,0.5% TH-HNMs 极大地促进 TH 在兔眼的吸收,达峰质量分数为对照组的 14.5 倍,生物利用度为对照组的 15.6 倍。给药后 6 h 兔眼角膜中 TH 质量分数仍高于包括曲霉菌和镰刀菌在内的大部分真菌的最低抑菌质量浓度(0.06 ~ 8.00 μg/ml)<sup>[24]</sup>,可很好地满足临床需求。值得注意的是,TH-HNMs 在角膜中的半衰期和 TH 油剂的半衰期比较接近,这表明 TH-HNMs 的眼部存留时间是有限的,TH-HNMs 在酸性条件下快速释放药物的特性非常有利于药物的及时释放和有效利用。

综上所述,TH-HNMs 制备方法简单,包封率高,粒径小,无眼部刺激性,能够显著促进 TH 在兔眼角膜中的吸收,有望成为 TH 眼科局部用药的传递载体,尤其是用于抗真菌眼药制剂的研发,改善真菌性角膜炎的疗效。

## 参考文献

- [1] Liu L, Mao K, Wang W, et al. Kolliphor® HS15 micelles for the delivery of coenzyme Q10: preparation, characterization, and stability [J]. AAPS PharmSciTech, 2016, 17(3): 757-766. DOI: 10.1208/s12249-015-0399-5.
- [2] Alani AW, Rao DA, Seidel R, et al. The effect of novel surfactants and Solutol HS15 on paclitaxel aqueous solubility and permeability across a Caco-2 monolayer [J]. J Pharm Sci, 2010, 99(8): 3473-3485. DOI: 10.1002/jps.22111.
- [3] Shubber S, Vllasaliu D, Rauch C, et al. Mechanism of mucosal permeability enhancement of CriticalSorb® (Solutol® HS15) investigated *in vitro* in cell cultures [J]. Pharm Res, 2015, 32(2): 516-527. DOI: 10.1007/s11095-014-1481-5.
- [4] Brayden DJ, Bzik VA, Lewis AL, et al. CriticalSorb™ promotes permeation of flux markers across isolated rat intestinal mucosae and Caco-2 monolayers [J]. Pharm Res, 2012, 29(9): 2543-2554. DOI: 10.1007/s11095-012-0785-6.
- [5] Cornaire G, Woodley J, Hermann P, et al. Impact of excipients on the absorption of P-glycoprotein substrates *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Pharm, 2004, 278(1): 119-131. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2004.03.001.
- [6] Xuguang S, Zhixin W, Zhiqun W, et al. Ocular fungal isolates and antifungal susceptibility in northern China [J]. Am J Ophthalmol, 2007, 143(1): 131-133. DOI: 10.1016/j.ajo.2006.09.042.
- [7] Liang QF, Jin XY, Wang XL, et al. Effect of topical application of terbinafine on fungal keratitis [J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(16): 1884-1888.
- [8] Tayel SA, El-Nabarawi MA, Tadros MI, et al. Promising ion-sensitive *in situ* ocular nanoemulsion gels of terbinafine hydrochloride: design, *in vitro* characterization and *in vivo* estimation of the ocular irritation and drug pharmacokinetics in the aqueous humor of rabbits [J]. Int J Pharm, 2013, 443(1-2): 293-305. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.12.049.
- [9] Tayel SA, El-Nabarawi MA, Tadros MI, et al. Positively charged polymeric nanoparticle reservoirs of terbinafine hydrochloride: preclinical implications for controlled drug delivery in the aqueous humor of rabbits [J]. AAPS PharmSciTech, 2013, 14(2): 782-793. DOI: 10.1208/s12249-013-9964-y.
- [10] 周天洋, 夏慧芸, 何继军, 等. 盐酸特比萘芬纳米乳剂点经角膜途径的吸收及分布特征 [J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33(10): 910-914. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.010.
- [11] Zhou TY, Xia HY, He JJ, et al. Absorption and distribution characteristics of terbinafine hydrochloride nanoemulsions in cornea after instillation [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33(10): 910-914. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.010.
- [12] Kaur IP, Rana C, Singh H. Development of effective ocular preparations of antifungal agents [J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2008, 24(5): 481-493. DOI: 10.1089/jop.2008.0031.
- [13] Chaurasia SS, Lim RR, Lakshminarayanan R, et al. Nanomedicine approaches for corneal diseases [J]. J Funct Biomater, 2015, 6(2): 277-298. DOI: 10.3390/jfb6020277.
- [14] Qaddoumi MG, Ueda H, Yang J, et al. The characteristics and mechanisms of uptake of PLGA nanoparticles in rabbit conjunctival epithelial cell layers [J]. Pharm Res, 2004, 21(4): 641-648.
- [15] Prausnitz MR, Noonan JS. Permeability of cornea, sclera, and conjunctiva: a literature analysis for drug delivery to the eye [J]. J Pharm Sci, 1998, 87(12): 1479-1488.
- [16] Chandasana H, Prasad YD, Chhonker YS, et al. Corneal targeted nanoparticles for sustained natamycin delivery and their PK/PD indices: an approach to reduce dose and dosing frequency [J]. Int J Pharm, 2014, 477(1-2): 317-325. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.10.035.
- [17] Habib FS, Fouad EA, Abdel-Rhman MS, et al. Liposomes as an ocular delivery system of fluconazole: *in-vitro* studies [J]. Acta Ophthalmol, 2010, 88(8): 901-904. DOI: 10.1111/j.1755-3768.2009.01584.x.
- [18] Jaiswal M, Kumar M, Pathak K. Zero order delivery of itraconazole via polymeric micelles incorporated in situ ocular gel for the management of fungal keratitis [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2015, 130: 23-30. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2015.03.059.
- [19] de Campos AM, Sánchez A, Gref R, et al. The effect of a PEG versus a chitosan coating on the interaction of drug colloidal carriers with the ocular mucosa [J]. Eur J Pharm Sci, 2003, 20(1): 73-81.
- [20] Lieleg O, Ribbeck K. Biological hydrogels as selective diffusion barriers [J]. Trends Cell Biol, 2011, 21(9): 543-551. DOI: 10.1016/j.tcb.2011.06.002.
- [21] Romero GB, Keck CM, Müller RH, et al. Development of cationic nanocrystals for ocular delivery [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2016, 107: 215-222. DOI: 10.1016/j.ejpb.2016.07.005.
- [22] Pepić I, Lovrić J, Filipović-Grčić J. How do polymeric micelles cross epithelial barriers? [J]. Eur J Pharm Sci, 2013, 50(1): 42-55. DOI: 10.1016/j.ejps.2013.04.012.
- [23] Guo C, Zhang Y, Yang Z, et al. Nanomicelle formulation for topical delivery of cyclosporine A into the cornea: *in vitro* mechanism and *in vivo* permeation evaluation [J/OL]. Sci Rep, 2015, 5: 12968 [2017-08-11]. <http://www.doc88.com/p-9972134265030.html>. DOI: 10.1038/srep12968.
- [24] Sun Y, Li Y, Nan S, et al. Synthesis and characterization of pH-sensitive poly(itaconic acid)-poly(ethylene glycol)-folate-poly(L-histidine) micelles for enhancing tumor therapy and tunable drug release [J]. J Colloid Interface Sci, 2015, 458: 119-129. DOI: 10.1016/j.jcis.2015.07.008.
- [25] Krishnan-Natesan S. Terbinafine: a pharmacological and clinical review [J]. Exp Opin Pharmacother, 2009, 10(16): 2723-2733. DOI: 10.1517/14656560903307462.

(收稿日期: 2017-05-12 修回日期: 2017-09-23)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)