(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 116077465 B
(45)授权公告日 2024.05.24

(21)申请号 202210184618.2
(22)申请日 2022.02.25
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 116077465 A
(43)申请公布日 2023.05.09
(73)专利权人 中南大学湘雅医院
地址 410000 湖南省长沙市开福区湘雅路87号
(72)发明人 雷光华 邓彩凤 曾超
(74)专利代理机构 北京细软智谷知识产权代理有限责任公司 11471
专利代理师 王金宝
(51)Int.Cl.
A61K 9/51(2006.01)
A61K 31/573(2006.01)
A61K 47/24(2006.01)
A61K 47/44(2017.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61K 9/19(2006.01)
(56)对比文件
AU 2005321751 A1,2006.07.06
AU 2016228201 A1,2016.10.13
CN 101181227 A,2008.05.21
CN 111904932 A,2020.11.10
CN 101443018 A,2009.05.27
CN 103505420 A,2014.01.15
CN 1823735 A,2006.08.30
CN 113795246 A,2021.12.14
Azizi, A et al..Efficacy of 0.1% triamcinolone with nanoliposomal carrier formulation in orabase for oral lichen planus patients: A clinical trial.《EUROPEAN JOURNAL OF INTEGRATIVE MEDICINE》.2016,第8卷(第3期),275-280.
Jiang, SD et al..Long noncoding RNAs in osteoarthritis.《JOINT BONE SPINE》.2017,第84卷(第5期),553-556.
徐明明等.蓖麻油、氢化蓖麻油及其聚氧乙烯衍生物中的主要脂肪酸的鉴别.《药物分析杂志》.2015,第35卷(第10期),1862-1865 .
潘冰冰等.药物透皮给药系统研究进展 .《中国实用医药》.2009,第4卷(第20期),241-244 .
审查员 孙妍妍

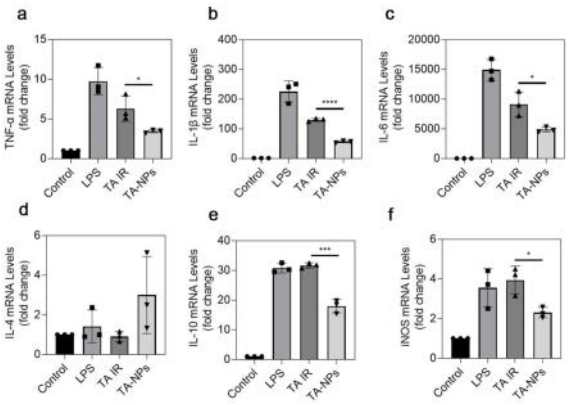
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

用于关节镇痛的纳米制剂及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一种用于关节镇痛的纳米制剂,所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体,所述纳米载体主要由磷脂和助剂组成,所述助剂包括聚氧乙烯蓖麻油。本发明的纳米制剂,可用于关节镇痛,载药量大,能在关节腔内滞留至少4周,其对OA的镇痛效果显著优于市售GC注射液,且可维持至少4周。还公开了该纳米制剂的制备方法和应用,工艺简单,且粒径小于200nm,可通过探头超声、高压均质或微孔滤膜除菌等方式实现终端灭菌,制备成本相对更低。



CN 116077465 B

1.一种用于骨关节炎的长效镇痛的纳米制剂,其特征在于,所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体,所述纳米载体由磷脂和助剂组成,所述磷脂与助剂的质量比为(1:20)-(20:1),

所述助剂为聚氧乙烯蓖麻油,所述聚氧乙烯蓖麻油选自聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯60氢化蓖麻油中的一种或几种;

所述磷脂为天然大豆磷脂或天然蛋黄磷脂;

所述糖皮质激素为曲安奈德或曲安奈德棕榈酸酯,所述糖皮质激素的载药量为0.5-20%。

2.根据权利要求1所述的纳米制剂,其特征在于,所述磷脂与助剂的质量比为(1:10)-(10:1)。

3.一种用于骨关节炎的长效镇痛的纳米制剂,其特征在于,所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体,所述纳米载体由磷脂和助剂组成,所述助剂为聚氧乙烯蓖麻油和15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯,所述磷脂与助剂的质量比为(1:20)-(20:1),

所述助剂为聚氧乙烯蓖麻油,所述聚氧乙烯蓖麻油选自聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯60氢化蓖麻油中的一种或几种;

所述磷脂为天然大豆磷脂或天然蛋黄磷脂;

所述糖皮质激素为曲安奈德或曲安奈德棕榈酸酯,所述糖皮质激素的载药量为0.5-20%。

4.根据权利要求3所述的纳米制剂,其特征在于,所述磷脂与助剂的质量比为(1:10)-(10:1)。

5.根据权利要求1-4任一项所述的纳米制剂,其特征在于,所述纳米制剂的粒径小于200nm,所述纳米制剂的剂型为注射液或冻干粉针。

6.一种如权利要求1-2任一项所述的纳米制剂的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:将糖皮质激素、聚氧乙烯蓖麻油和磷脂溶于有机溶剂中,通过减压蒸发法除去有机试剂,加水脱膜,然后通过探头超声、高压均质或挤压过微孔膜,即得。

7.一种用于关节镇痛的载曲安奈德的纳米粒的注射液,其特征在于,其制备方法如下:

将4mg曲安奈德、125mg磷脂E80、70mg HEL-40溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声,即得。

8.一种用于关节镇痛的载曲安奈德的纳米粒的注射液,其特征在于,其制备方法如下:

将4mg曲安奈德、100mg磷脂E80、100mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声,即得。

9.一种如权利要求1-5任一项所述的纳米制剂或由权利要求6所述制备方法制备得到的纳米制剂在制备用于骨关节炎关节镇痛的药物中的应用。

用于关节镇痛的纳米制剂及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,特别是一种用于关节镇痛的纳米制剂及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 骨关节炎(OA)是一种多因素引起的以关节疼痛为主要症状的衰老性疾病,致残率高,给国家和社会造成了沉重负担。镇痛是OA患者就诊的最主要诉求。糖皮质激素(glucocorticoid,GC)是一类药理作用多样的甾体类小分子药物,可通过抑制炎症反应而发挥镇痛作用,已被广泛用于OA镇痛;但GC存在镇痛效果维持时间较短、效果不够显著以及存在安全性隐患等亟待解决的重要问题。如临床使用的曲安奈德速释混悬注射剂,在骨关节炎患者的膝关节平均滞留时间为3.8天,关节腔注射频率较高。因此,降低GC给药频率,延长其骨关节炎镇痛效果,具有重要意义。

[0003] 近年来,随着生物高分子聚合物材料在医药学领域的广泛应用,基于高分子聚合物的缓释微球逐渐成为新药物制剂的研究热点之一。目前,上市的高分子聚合物缓释微球主要是聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)缓释微球。将GC(如曲安奈德、地塞米松、地塞米松棕榈酸酯等)包载在PLGA微球,将其进行关节腔注射后,GC对OA的镇痛效果可持续4-12周,且药物在关节腔中的滞留时间和镇痛时间与微球的粒径相关,但当微球的粒径大于25μm时,有促进关节炎症发展的风险。另外,PLGA缓释微球的制备工艺复杂,末端灭菌困难,且降解过程中产生的乳酸和羟基乙酸可能造成关节腔内pH降低,从而促进炎症反应的发展。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是,克服以上背景技术中提到的不足和缺陷,提供一种由糖皮质激素、磷脂和聚氧乙烯蓖麻油制成的用于关节镇痛的纳米制剂,同样可以实现药物长时间缓释(4周以上),但其制备工艺简单易控,且灭菌容易,而且所用辅料不会造成局部pH降低等风险。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明提出的技术方案为:

[0006] 一种用于关节镇痛的纳米制剂,所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体,所述纳米载体主要由磷脂和助剂组成,所述助剂包括聚氧乙烯蓖麻油。

[0007] 本发明研究发现,只使用磷脂、或只使用聚氧乙烯蓖麻油包裹糖皮质激素时,不能形成稳定的纳米粒。当糖皮质激素装载到由磷脂、聚氧乙烯蓖麻油组成的纳米粒后,其抑制巨噬细胞炎性因子表达的能力更强(如图1,关节内炎症程度与关节疼痛密切相关);而且我们意外地发现由磷脂与聚氧乙烯蓖麻油组成的纳米制剂在关节炎的炎性关节中可实现长时间的缓释作用(如图2),进一步地,这些装载糖皮质激素的纳米粒可实现长效镇痛(如图3)。

[0008] 上述的纳米制剂,优选的,所述糖皮质激素包括丙酸氯倍他索、醋酸双氟拉松、丙酸地塞米松、二氟泼尼酯、糠酸莫米松、戊酸双氟可龙、倍他米松丁酸丙酸酯、醋酸氟轻松、

丙酸丁酸氢可的松、丙酸倍氯米松、丙酸地泼罗酮、戊酸倍他米松、戊酸地塞米松、泼尼松龙醋酸戊酸酯、氟轻松、丁酸氢化可的松、丁酸氯倍他松、丙酸阿氯米松、曲安奈德、氟米松新戊酸酯、泼尼松龙、氢化可的松、地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、曲安奈德棕榈酸酯中的一种或多种。更优选地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、曲安奈德、泼尼松龙的一种或多种。

[0009] 优选的,所述磷脂包括天然大豆磷脂、天然蛋黄磷脂、合成磷脂中的一种或多种,更优选磷脂E80、S100、PC98-T、HSPC。

[0010] 优选的,所述聚氧乙烯蓖麻油包括聚氧乙烯35蓖麻油(EL-35)、聚氧乙烯40蓖麻油(EL-40)、聚氧乙烯40氢化蓖麻油(HEL-40)、聚氧乙烯60氢化蓖麻油(HEL-60)中的一种或几种。更优选固体聚氧乙烯蓖麻油(HEL-40和HEL-60中的至少一种)与液体聚氧乙烯蓖麻油(EL-35和EL-40中的至少一种)进行联合使用,可以进一步提高载药量。

[0011] 优选的,所述助剂还包括15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(商品名为Kolliphor HS15),加入15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯后载药量更高。

[0012] 优选的,所述磷脂与助剂的质量比为(1:20)-(20:1),更优选(1:10)-(10:1)。

[0013] 优选的,所述糖皮质激素的载药量为0.5-20%。

[0014] 优选的,所述纳米制剂的粒径小于200nm。

[0015] 优选的,所述纳米制剂的剂型为注射液或冻干粉针。

[0016] 基于一个总的发明构思,本发明还相应提供一种所述用于关节镇痛的纳米制剂的制备方法,包括如下步骤:将糖皮质激素、磷脂、助剂溶于有机溶剂中,通过减压蒸发法除去有机试剂,加水脱膜,然后通过探头超声、高压均质或挤压过微孔膜,即得。

[0017] 基于一个总的发明构思,本发明还相应提供一种所述的纳米制剂在制备用于骨关节炎关节镇痛的药物中的应用。

[0018] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0019] 1、本发明的纳米制剂,可用于关节镇痛,载药量大,能在关节腔内滞留至少4周,其对OA的镇痛效果显著优于市售GC注射液,且可维持至少4周。

[0020] 2、本发明的制备方法制备工艺简单,且粒径小于200nm,可通过探头超声、高压均质或微孔滤膜除菌等方式实现终端灭菌,制备成本相对更低。

附图说明

[0021] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0022] 图1是实施例2制备得到的纳米制剂的体外生物活性考察实验结果(药物处理24h后);其中,a)细胞编码TNF-α基因的mRNA的相对表达量;b)细胞编码IL-1β基因的mRNA的相对表达量;c)细胞编码IL-6基因的mRNA的相对表达量;d)细胞编码IL-4基因的mRNA的相对表达量;e)细胞编码IL-10基因的mRNA的相对表达量;f)细胞编码iNOS基因的mRNA的相对表达量。*P<0.05,***P<0.001,****P<0.0001。

[0023] 图2是实施例1和实施例2制备得到的纳米制剂的体内分布实验结果;其中,a)NPs(HEL-40)和NPs(HEL-60)在OA模型大鼠体内分布的小动物活体荧光成像图;b)NPs(HEL-40)

及NPs(HEL-60)在OA模型大鼠炎性关节分布的半定量柱状图(n＝3)。

[0024] 图3是实施例2制备得到的纳米制剂的药效学实验结果;其中,a)OA模型大鼠右后肢机械缩足阈值变化图(n＝7),****P<0.0001,同溶液组(TAIR)相比;b)OA模型大鼠双足负重差值变化图(n＝7),**P<0.01,同溶液组(TAIR)相比。

具体实施方式

[0025] 为了便于理解本发明,下文将结合说明书附图和较佳的实施例对本发明做更全面、细致地描述,但本发明的保护范围并不限于以下具体实施例。

[0026] 除非另有定义,下文中所使用的所有专业术语与本领域技术人员通常理解含义相同。本文中所使用的专业术语只是为了描述具体实施例的目的,并不是旨在限制本发明的保护范围。

[0027] 除非另有特别说明,本发明中用到的各种原材料、试剂、仪器和设备等均可通过市场购买得到或者可通过现有方法制备得到。

[0028] 实施例1:

[0029] 一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂E80、HEL-40,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0030] 将4mg曲安奈德、125mg磷脂E80、70mg HEL-40溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为133nm。

[0031] 实施例2:

[0032] 一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂E80、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0033] 将4mg曲安奈德、100mg磷脂E80、100mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为120nm。

[0034] 实施例3:

[0035] 一种用于关节镇痛的载地塞米松棕榈酸酯纳米粒,其配方包含地塞米松棕榈酸酯、磷脂S100、HEL-40,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0036] 将4mg地塞米松棕榈酸酯、125mg磷脂S100、70mg HEL-40溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为144nm。

[0037] 实施例4:

[0038] 一种用于关节镇痛的载地塞米松棕榈酸酯纳米粒,其配方包含地塞米松棕榈酸酯、磷脂S100、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0039] 将4mg地塞米松棕榈酸酯、100mg磷脂S100、100mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为128nm。

[0040] 实施例5:

[0041] 一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒,其配方包含地塞米松、磷脂S100、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0042] 将2mg地塞米松、50mg磷脂S100、10mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为118nm。

[0043] 实施例6:

[0044] 一种用于关节镇痛的载泼尼松龙纳米粒,其配方包含泼尼松龙、磷脂PC98-T、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0045] 将1mg泼尼松龙、40mg磷脂PC98-T、4mg HEL-60溶于氯仿与乙醇的混合液中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为129nm。

[0046] 实施例7:

[0047] 一种用于关节镇痛的载地塞米纳米粒,其配方包含地塞米松、磷脂HSPC、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0048] 将4mg地塞米松、30mg磷脂HSPC、150mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为105nm。

[0049] 实施例8:

[0050] 一种用于关节镇痛的载地塞米棕榈酸酯纳米粒,其配方包含地塞米松棕榈酸酯、磷脂E80、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0051] 将2mg地塞米松棕榈酸酯、15mg磷脂E80、150mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为92nm。

[0052] 实施例9:

[0053] 一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂E80、HS15、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0054] 将20mg曲安奈德、100mg磷脂E80、40mg HS15、60mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为124nm。

[0055] 实施例10:

[0056] 一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒,其配方包含地塞米松、磷脂E80、HS15、EL-35,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0057] 将20mg地塞米松、100mg磷脂E80、40mg HS15、60mg EL-35溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为118nm。

[0058] 实施例11:

[0059] 一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂E80、EL-35、HEL-40,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0060] 将20mg曲安奈德、100mg磷脂E80、50mg EL35、50mg HEL-40溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为136nm。

[0061] 实施例12:

[0062] 一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒,其配方包含地塞米松、磷脂E80、EL-35、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

[0063] 将20mg地塞米松、100mg磷脂E80、50mgEL-35、50mg HEL-60溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经高压均质即得。粒径为132nm。

[0064] 实施例13:

[0065] 一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂E80、HEL-40,剂型为冻干粉针。其制备方法如下:

[0066] 将4mg曲安奈德、125mg磷脂E80、70mg HEL-40溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入纯水水化,经冰水浴探头超声,然后加入质量体积比为10%的甘露醇,冷冻干燥即

得。

[0067] 实施例14：

[0068] 一种用于关节镇痛的地塞米松纳米粒，其配方包含地塞米松、磷脂E80、HEL-60，剂型为冻干粉针。其制备方法如下：

[0069] 将4mg地塞米松、100mg磷脂E80、100mg HEL-60溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入纯水水化，经冰水浴探头超声，然后加入质量体积比为10％的甘露醇，冷冻干燥即得。

[0070] 为进一步证明本发明的纳米制剂的效果，开展了以下实验：

[0071] 1)组成成分对纳米制剂载药量的影响

[0072] 本发明单独使用磷脂或者聚氧乙烯蓖麻油制备了载糖皮质激素纳米粒；同时，通过固定磷脂与聚氧乙烯蓖麻油的比例，考察不同聚氧乙烯蓖麻油组成成分以及添加HS15与否对纳米粒制备载糖皮质激素纳米粒性质的影响。如表1所示，单独使用磷脂E80或HEL-60制备的载曲安奈德纳米粒非常不稳定或无法较好包载药物；需要磷脂E80和HEL-60在一定比例下联合使用才能制备出符合发明人要求的纳米粒。另外，当HEL-60与EL-35联合使用或者HEL-60与HS15联合使用时，可以制备更高载药量的纳米粒。

[0073] 表1：不同组成成分对纳米粒制备载糖皮质激素纳米粒性质的影响

[0074]

实验组序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E80（mg）	80	0	30	30	30	30	30	30	30	30
HEL-60（mg）	0	80	50	0	50	25	25	30	30	20
EL-35（mg）	0	0	0	0	0	25	0	10	20	30
HS15（mg）	0	0	0	50	0	0	25	10	0	0
曲安奈德（mg）	3	3	3	3	8	8	8	8	8	8
是否有沉淀	是	否（5min内变浑浊）	否	是	是	否	否	否	否	否

[0075] 2)体外生物学活性考察

[0076] 将小鼠源巨噬细胞RAW264.7接种在12孔细胞培养板中，待其贴壁后，以LPS刺激24h，将培养基更换为含药培养基，分别为TA溶液(记为TA IR)和载TA的NPs(TA的浓度为4μg/mL，不加药的培养基处理作为对照，载TA的NPs按照实施例2制得，记为TA-NPs)，孵育24h后，使用实时荧光定量PCR法测定其中IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-10、IL-4以及iNOS的浓度。未经LPS处理的细胞和经LPS处理但未经TA处理的细胞分别记为“Control”组和“LPS”组。

[0077] 由图1可知，相对于其他处理方法，TA-NPs处理可以显著降低巨噬细胞炎症因子基因的表达。

[0078] 3)OA大鼠模型

[0079] 对SD大鼠膝关节的关节腔注射碘乙酸钠构建OA大鼠模型，待大鼠膝关节出现肿胀，痛阈显著降低，即得OA大鼠模型。

[0080] 4)体内分布实验

[0081] 将糖皮质激素用荧光标记物DiD代替,按照实施1和实施例2制备纳米制剂,分别记为NPs(HEL-40)和NPs(HEL-60)。将DiD溶液(记为DiD)、NPs(HEL-40)和NPs(HEL-60)分别注射至OA大鼠膝关节腔内,分别于第0d、1d、2d、3d、7d、14d、21d及28d通过小动物活体成像仪考察大鼠炎性关节处的荧光强度。随后,分离各组大鼠炎性关节,对其进行冰冻切片,然后分别用DAPI、绿色荧光标记的CD68及波形蛋白抗体对切片中细胞的细胞核、滑膜巨噬细胞及滑膜成纤维细胞进行染色,通过荧光显微镜进行观察并拍照。

[0082] 由图2可知,相对于DiD,NPs(HEL-60)和NPs(HEL-40)可以在OA模型大鼠关节腔内的滞留至少可达28天。这些结果表明,NPs在炎性关节腔内具有良好的缓释性。

[0083] 5)药效学研究

[0084] 通过关节腔注射方式,对OA模型大鼠分别使用生理盐水(记为Saline)、TA溶液(记为TAIR)、由实施例2制得载TA的NPs(记为TA-NPs)以及由实施例2制得未载药的NPs(记为Vehicle)进行治疗;另外,在正常大鼠膝关节腔内注射等体积的生理盐水作为对照(记为Control)。TA的给药剂量为每个膝关节60μg,于造模后第7天给药,共给药1次。从给药第一天起,每周测量一次各组大鼠的机械缩足阈值及双足负重差值。于第35天,进行大鼠行为学检测。

[0085] 由图3可知,相对于其他方式来说,NPs治疗可以更有效的缓解OA大鼠的关节炎症。这些结果充分说明实现了关节炎滑膜双细胞靶向递送药物对OA治疗的有效性。也就是说,本发明制备得到的纳米制剂在制备用于骨关节炎关节镇痛的药物方面具有很好的应用前景。

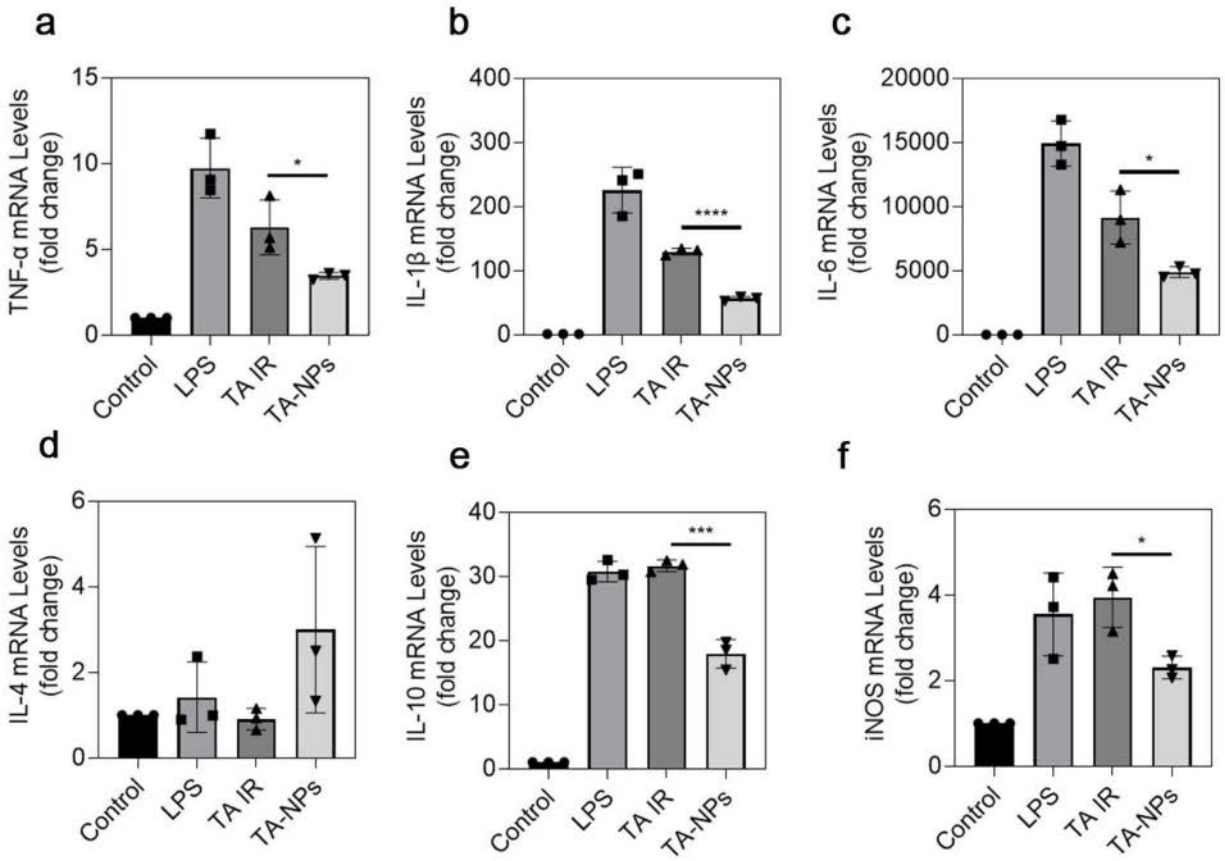

a
TNF-α mRNA Levels (fold change)
15
10
5
0
*
Control
LPS
TA IR
TA-NPs
b
IL-1β mRNA Levels (fold change)
400
300
200
100
0
****
Control
LPS
TA IR
TA-NPs
c
IL-6 mRNA Levels (fold change)
20000
15000
10000
5000
0
*
Control
LPS
TA IR
TA-NPs
d
IL-4 mRNA Levels (fold change)
6
4
2
0
Control
LPS
TA IR
TA-NPs
e
IL-10 mRNA Levels (fold change)
40
30
20
10
0
***
Control
LPS
TA IR
TA-NPs
f
iNOS mRNA Levels (fold change)
6
4
2
0
*
Control
LPS
TA IR
TA-NPs

图1

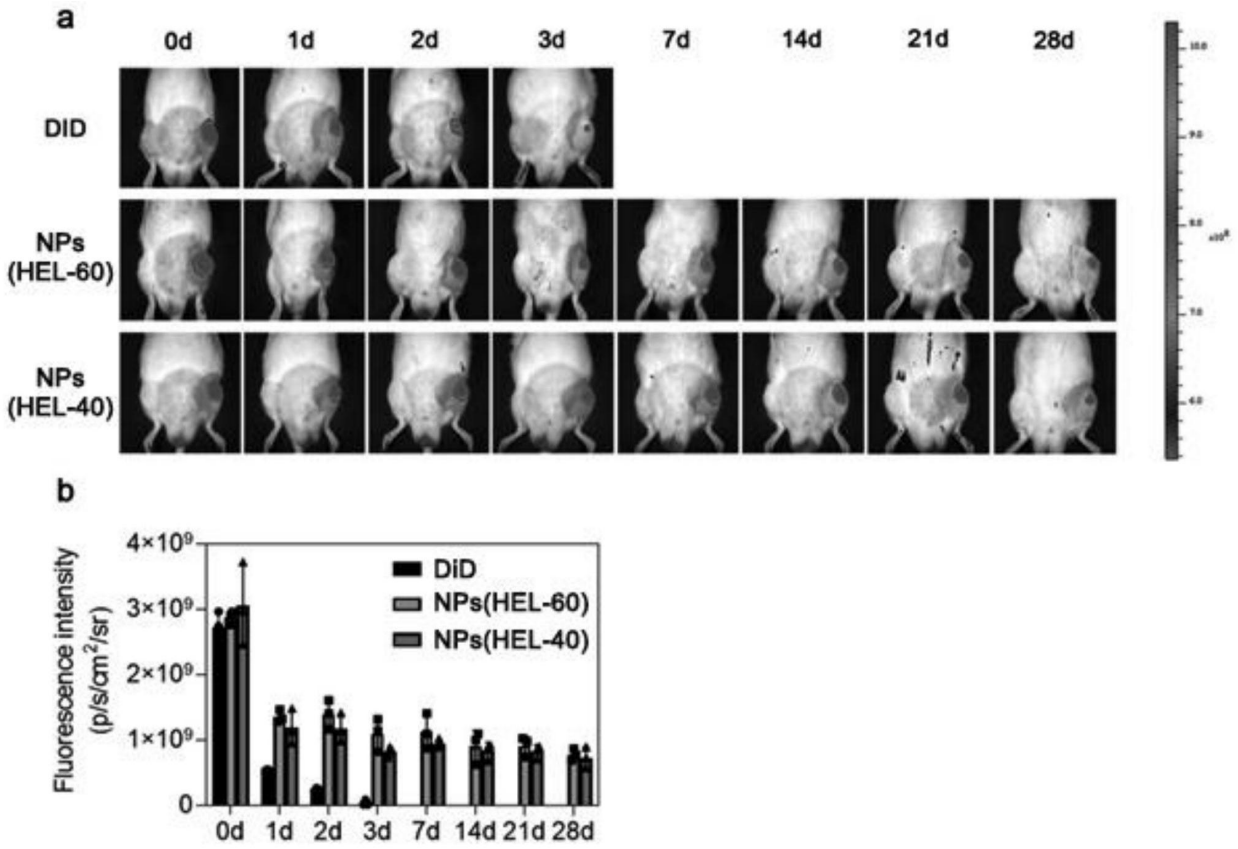

a
0d
1d
2d
3d
7d
14d
21d
28d
DID
NPs (HEL-60)
NPs (HEL-40)
b
Fluorescence intensity (p/s/cm²/sr)
4×10⁹
3×10⁹
2×10⁹
1×10⁹
0
DiD
NPs(HEL-60)
NPs(HEL-40)
0d 1d 2d 3d 7d 14d 21d 28d

图2

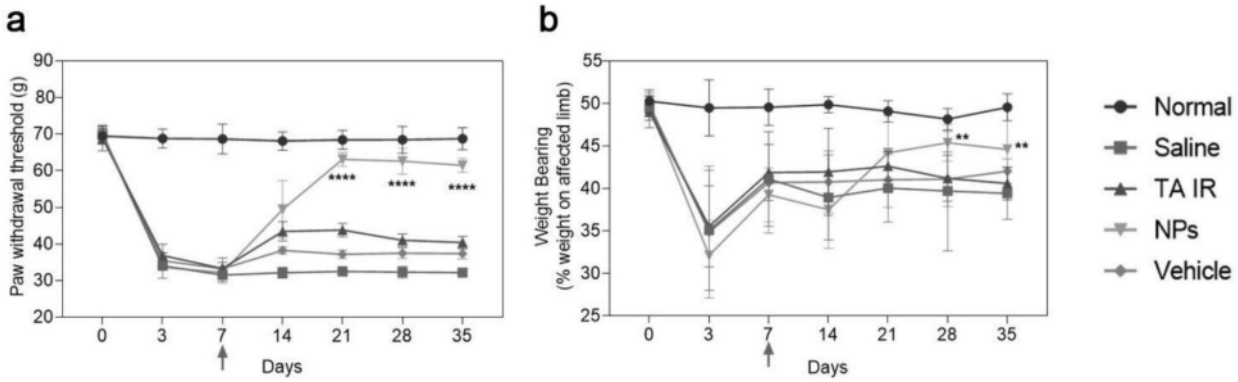

a
Paw withdrawal threshold (g)
90
80
70
60
50
40
30
20
0 3 7 14 21 28 35
Days
****
****
****
b
Weight Bearing (% weight on affected limb)
55
50
45
40
35
30
25
0 3 7 14 21 28 35
Days
**
**
Normal
Saline
TA IR
NPs
Vehicle

图3