

两亲性胶束包覆 Eu^{3+} 掺杂 LDHs 纳米载体材料的制备与性能研究

梁 良¹, 任 锦^{2*}, 余敬谋³, 石向群¹, 余 霞¹

(1. 九江学院实验中心, 江西 九江 332005; 2. 九江学院药学与生命科学学院, 江西 九江 332005; 3. 湖州师范学院生命科学学院, 浙江 湖州 313000)

摘要:采用两亲性胶束 CSA-ss-DOCA (CsD) 对 Eu^{3+} 掺杂层状双氢氧化物 Eu-LDH (LE) 进行包覆, 制备得到纳米载体材料 LE@CsD。利用荧光光谱、FT-IR、XRD、TG、粒度以及溶血实验和蛋白吸附等方法对样品结构、尺寸、热力学性质与生物相容性进行表征。结果表明, LE@CsD 在 613 nm 处 ($\lambda_{\text{ex}} = 306 \text{ nm}$) 具有 Eu^{3+} 的特征荧光, CsD 对 LE 的包覆并未影响样品获得荧光特性; 模板药物分子五氟尿嘧啶 (5Fu) 被成功负载到 LE@CsD 上, 且其层状结构未受破坏, 验证了样品的载体性质; 负电性胶束 CsD 通过静电作用与 LE 结合, “屏蔽”了 LE 层板的正电荷, 使 LE@CsD 的蛋白吸附率仅为 0.05%, 溶血率低至 1.16%, 平均粒径控制为 $(230.3 \pm 2.7) \text{ nm}$, 具备良好的生物相容性。

关键词:层状双氢氧化物; 胶束; 载体; 荧光; 生物相容性

中图分类号: O614; TB33

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2022)09-0125-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.09.025

Preparation and properties of Eu^{3+} -doped LDHs nano carrier materials coated by amphiphilic micelles

LIANG Liang¹, REN Jin^{2*}, YU Jing-mou³, SHI Xiang-qun¹, YU Xia¹

(1. Lab Center, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China;

2. School of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China;

3. College of Life Sciences, Huzhou University, Huzhou 313000, China)

Abstract: LE@CsD, a kind of nano carrier material, is prepared by using amphiphilic micelles CSA-ss-DOCA to coat Eu^{3+} -doped layered double hydroxides (Eu-LDH, or LE). The structure, size, thermodynamic properties and biocompatibility of the samples are investigated by means of fluorescence spectra, FT-IR, XRD, TG, particle size analyzer, hemolysis test and protein adsorption. The results indicate that LE@CsD has a characteristic fluorescence of Eu^{3+} at 613 nm ($\lambda_{\text{ex}} = 306 \text{ nm}$), and the fluorescence characteristics of the sample is not affected by the coating of LE by CsD; Pentafluorouracil (5Fu), the template drug molecule, is successfully loaded onto LE@CsD, and its layered structure has not been damaged, verifying the carrier properties of the sample; CsD negative micelles combines with LE through electrostatic action to “shield” the positive charge of LE laminate, which makes the protein adsorption rate as low as 0.05%, the hemolysis rate as low as 1.16%, and the average particle size be controlled at $230.3 \pm 2.7 \text{ nm}$. LE@CsD also has a good biocompatibility.

Key words: layered double hydroxides; micelles; carrier; fluorescence; biocompatibility

层状双氢氧化物 (LDHs) 是一种由二价和三价无机金属阳离子与羟基共价结合形成的纳米层状材料, 其层板带正电荷, 层间阴离子则用来补偿主层板上的电荷平衡^[1]。LDHs 的层间阴离子可与负电性客体药物分子通过离子交换实现客体分子插层, 对进入层间的药物分子的束缚作用能够使其在体内运送时得到保护, 防止体内生物酶对药物的降解, 从而具备药物递送能力, 成为近年来药物载体材料研究的热点对象之一^[2-4]。荧光成像基于其高灵敏度在生物医药研究方面是一项非常关键的技术。利用

LDHs 的层板结构, 可以将荧光物质如吲哚菁绿 (ICG) 利用静电作用力插入 LDHs 的层间或吸附在 LDHs 表面^[5], 还可以将具有荧光的稀土元素如 Eu^{3+} 掺杂在 LDHs 主层板上^[6], 或将具有荧光的量子点 (QDs) 与 LDHs 形成复合材料^[7], 通过这些方式形成的 LDHs 荧光材料能够有效抑制发光物质的聚集和泄露, 可以在生物成像的同时进行药物递送^[8-10]。

虽然 LDHs 荧光材料具备成为可成像药物递送载体的潜力, 但由于 LDHs 的表面带正电荷, 会吸附

收稿日期: 2021-09-29; 修回日期: 2022-06-30

基金项目: 江西省卫健委科技项目 (20201118); 国家自然科学基金项目 (81860631)

作者简介: 梁良 (1986-), 男, 硕士, 实验师, 主要从事纳米药物载体材料研究, liangliangrj@126.com; 任锦 (1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向为药物递送体系的研究与开发, 通讯联系人, yanjiushengrj@126.com。

带负电荷的血浆蛋白并对自身药代动力学行为产生不利影响,缩短其在血液中的停留时间^[11]。因而,对 LDHs 进行功能化改性、延长其在体内的循环时间、增强其生物相容性是非常必要的。采用聚合物对 LDHs 进行包覆复合可以增加其在模拟生理条件下的稳定性和分散性,是一种有效的功能化方式。本课题组合成的 CSA-ss-DOCA (CsD) 属于两亲性聚合物胶束^[12-13],具备良好的水相分散性与生物相容性,利用其表面的负电性,可通过静电作用与层板带正电的 LDHs 有效结合,提升药物载体材料在体内的稳定性。

因此,笔者以 Eu³⁺ 掺杂 LDHs,再用 CsD 对掺杂后的 LDHs 进行包覆处理,得到 LDH-Eu@CSA-ss-DOCA (LE@CsD) 载体复合物,并对其载药前后的结构变化、荧光性能、热力学性质以及生物相容性进行了表征与分析。

1 仪器与试剂

F7000 型荧光分光光度计,日本日立公司生产; VERTEX70 型傅里叶变换红外光谱仪(分辨率 2 cm⁻¹, KBr 压片)、D8 ADVANCE 型 X 射线衍射仪(Cu 靶,靶压 40 kV,靶流 40 mA),德国 Bruker 公司生产; STA8000 型同步热分析仪(N₂ 氛围,升温速率 10℃/min),美国 PerkinElmer 公司生产; 90Plus 型激光粒度仪,美国 Brookhaven 公司生产。

六水硝酸镁、九水硝酸铝、氢氧化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾,分析纯,天津市大茂化学试剂厂生产;六水硝酸铈、均苯三甲酸、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)、氯化钠,分析纯;牛血清白蛋白(BSA)、去氧胆酸(DOCA),上海阿拉丁生物化学技术有限公司生产;肝素钠、BCA 蛋白浓度测定试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司生产;软骨素硫酸钠盐(CSA),东京化成工业株式会社生产。

2 实验方法

2.1 LDH-Eu(LE)的制备

将 100 mL 溶有氢氧化钠和均苯三甲酸的去二氧化碳水溶液倒入三口烧瓶中,25℃ 氮气保护,400 r/min 磁力搅拌 15 min 后,按摩尔比 20:9:1 将六水硝酸镁、九水硝酸铝和六水硝酸铈溶于 20 mL 去二氧化碳水中,匀速滴加到三口烧瓶中,滴完 1 h 后,调节 pH 至 9.5,继续搅拌 3 h,再用去二氧化碳水离心清洗 3 次后复溶,倒入晶化釜中,105℃ 晶化

12 h,得到 LDH-Eu 晶化液,冷冻干燥成白色粉末。

以药物分子五氟尿嘧啶(5Fu)为模板,将其插层到 LDH-Eu 中得到 LDH-Eu/5Fu,与空白载体进行对比分析。实验方法为先称取适量的五氟尿嘧啶、氢氧化钠和均苯三甲酸一起溶于 100 mL 去二氧化碳水中,其余步骤如上所述。

2.2 LDH-Eu@CSA-ss-DOCA (LE@CsD) 的制备

依据本课题组开发的工艺制得聚合物胶束 CSA-ss-DOCA^[12]。量取 LDH-Eu 晶化液 15 mL 倒入锥形瓶中,500 r/min 磁力搅拌,将 15 mL 溶有 75 mg 的 CSA-ss-DOCA 溶液滴入晶化液中,滴完继续搅拌 15 min,封口,超声 4 h 后再静置 12 h,最后冷冻干燥得白色粉末 LE@CsD。

将上述方法中的 LDH-Eu 晶化液换成 LDH-Eu/5Fu 晶化液,其余工艺步骤不变,得到 5Fu 插层的载药复合物 LDH-Eu/5Fu@CSA-ss-DOCA (LE5@CsD)。

2.3 PBS 溶血性实验

将已知 Eu 质量分数的样品,用 PBS 配制质量浓度为 0.025 mg/mL 的纳米载体悬浮液为工作液。取适量的小鼠新鲜血液放入涂有肝素钠溶液的 EP 管中,先离心去除上清液,然后将红细胞用 PBS 洗涤 5 次,直至上清液接近透明,收集健康的红细胞并用 PBS 稀释 10 倍。将工作液与红细胞混合静置 2 h 后,离心 1 min,拍照,并用酶标仪检测上清液在 540 nm 的紫外吸收值。该过程以超纯水为阳性对照,PBS 为阴性对照。采用分光光度法计算溶血率:

$$\text{溶血率} = (\text{实验组吸收值} - \text{阴性对照组吸收值}) / (\text{阳性对照组吸收值} - \text{阴性对照组吸收值})$$

2.4 蛋白质吸附实验

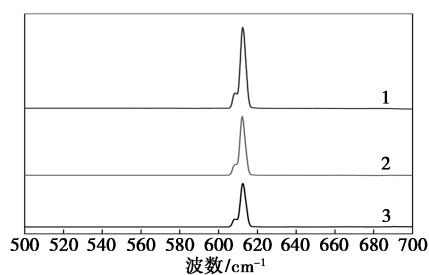
将各已知 Eu 质量分数的样品,用 PBS 配制质量浓度为 0.5 mg/mL 的纳米颗粒悬浮液为母液。取 0.5 mL 母液放入 EP 管中与 0.5 mg/mL 的 BSA (用 PBS 溶解)混合,使 BSA 的最终质量浓度为 0.25 mg/mL。37℃、100 r/min 恒温振荡 2 h 后,从每个样品中分别取出 200 μL 混合物,将取出的混合物于 8 000 r/min 离心 15 min,然后收集上清液,用 BSA 蛋白浓度测定试剂盒进行定量检测。

3 结果与讨论

3.1 荧光图谱与效果分析

各样品在激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 306 \text{ nm}$ 时的荧光发射

光谱如图 1 所示。从图 1 中可知,各曲线均在 613 nm 得到最大发射强度,是 Eu³⁺ 的特征荧光,属于 ⁵D₀→⁷F₂ 能级的跃迁^[14-15],说明 Eu³⁺ 成功取代部分 Al³⁺ 作为层板骨架元素,并使材料具备了荧光特性。胶束 CsD 的包覆以及药物分子 5Fu 的载入并未对其最大发射波长产生影响。将样品放入暗箱式三用紫外分析仪中,在 254 nm 紫外光照射下,各样品均呈现出明显的红色荧光,与发色光谱的结果一致。

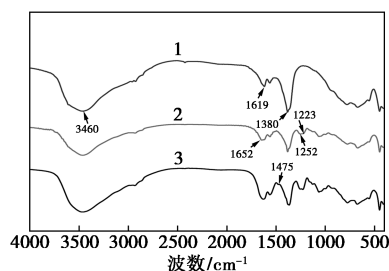


1—LE;2—LE@CsD;3—LE5@CsD

图 1 LE、LE@CsD 和 LE5@CsD 的荧光发射光谱

3.2 FT-IR 分析

样品的傅里叶红外光谱如图 2 所示。从图 2 中可知,LE 样品曲线在 3 460 cm⁻¹ 处的宽峰属于—OH 的伸缩振动吸收峰;1 619 cm⁻¹ 附近则对应于 LDHs 层间水和吸附水的弯曲振动吸收峰;1 380 cm⁻¹ 处是层间阴离子-硝酸根的特征吸收峰;400~1 000 cm⁻¹ 分布着 LDHs 层板中金属氧键的特征吸收峰。对 LE 进行胶束包覆后,LE@CsD 曲线在 1 652 cm⁻¹ 出现了 CsD 中 C=O 的伸缩振动峰,在 1 252 cm⁻¹ 和 1 223 cm⁻¹ 处则分别是 C—O 和 S=O 的伸缩振动峰,说明 CsD 与 LE 已成功复合。而 5Fu 插层的 LE5@CsD 曲线在 1 475 cm⁻¹ 处存在嘧啶环中 C=C 的振动峰,证明 LE@CsD 复合物能够装载药物分子 5Fu。

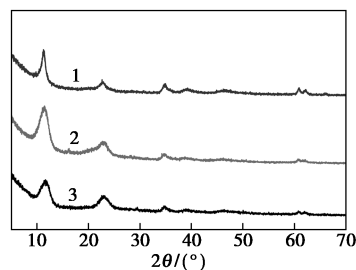


1—LE;2—LE@CsD;3—LE5@CsD

图 2 LE、LE@CsD 和 LE5@CsD 的傅里叶红外光谱图

3.3 XRD 分析

LE、LE@CsD 和 LE5@CsD 的 XRD 图谱如图 3 所示。由图 3 中可以看出,各曲线晶面的特征衍射峰分别均出现在 11.4°、22.9° 和 34.5° 附近,各衍射角之间的度数具有较好的倍数关系,表明 LE、LE@CsD 和 LE5@CsD 样品均拥有较为规则的层状结构^[16-17],胶束 CsD 的包覆以及 5Fu 的插入并未明显破坏 LDH 材料的结构状态。

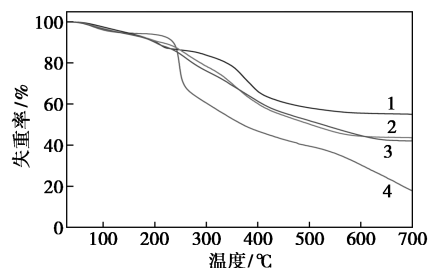


1—LE;2—LE@CsD;3—LE5@CsD

图 3 LE、LE@CsD 和 LE5@CsD 的 XRD 谱图

3.4 TG 分析

样品的热失重曲线如图 4 所示。从图 4 中可知,在约 200°C 之前,LE@CsD 与 LE 的失重过程一致,依次为材料表面的吸附水与层间水的挥发^[18];而温度继续升高至 600°C 的过程中,LE@CsD 经历了层板上羟基的脱除、包覆胶束 CsD 以及层间 NO₃ 逐步分解的过程;当温度超过 600°C 后,样品的质量变化趋于稳定;700°C 时,LE@CsD 的残留率为 43.66%,介于 LE 的 55.03% 和 CsD 的 17.79% 之间,证明 LE@CsD 确为 LE 与 CsD 的复合产物。载有 5Fu 的 LE5@CsD 最终残留率低于 LE@CsD 是因为模板药物分子 5Fu 完全分解。



1—LE;2—LE@CsD;3—LE5@CsD;4—CsD

图 4 LE、LE@CsD、LE5@CsD 和 CsD 的热失重曲线

3.5 粒径与分散性

样品的平均粒径和分散系数如表 1 所示。由表 1 中可以看出,LE 的初始粒径均值为 (186.1±6.2) nm, CsD 包覆以及载入 5Fu 后的平均粒径分别增加至

(230.3±2.7) nm 和 (260.4±5.3) nm, 该尺寸下纳米载体材料既能够穿透肿瘤血管壁, 又可以避免因粒径过小带来的纳米冲击毒性^[19]。由于 CsD 属于两亲性聚合物胶束, 在水相中拥有良好的分散性能, 所以包覆后的 LE@CsD 与 LE5@CsD 的分散性能提升。

表 1 LE、LE@CsD 和 LE5@CsD 的平均粒径及多分散指数

样品	平均粒径/nm	多分散指数
LE	186.1±6.2	0.328±0.004
LE@CsD	230.3±2.7	0.296±0.006
LE5@CsD	260.4±5.3	0.259±0.130

3.6 溶血性

以 PBS 缓冲液模拟体液环境, LE@CsD 与 LE 的溶血率如表 2 所示, 从表 2 中可以看到, LE@CsD 和 LE 样品在 PBS 缓冲液中均未发生明显溶血。LE 的溶血率为 1.77%, LE@CsD 的溶血率仅为 1.16%, 表现出良好的生物相容性。

表 2 LE 与 LE@CsD 的溶血率

样品	溶血率/%
LE	1.77
LE@CsD	1.16

3.7 蛋白吸附性

LE@CsD 与 LE 的蛋白吸附率如表 3 所示。从表 3 中可知, LE@CsD 的蛋白吸附率仅为 0.05%, 而 LE 的蛋白吸附率高达 77.31%, 这是因为 LE 裸露的层板表面带大量正电荷, 会与带负电荷的牛血清白蛋白发生吸附作用, 而采用负电性的 CsD 胶束对 LE 进行包覆后^[20], 平衡了 LE 层板表面的正电荷, 使 LE@CsD 纳米粒表面电荷转为负值, 因此 LE@CsD 能够在牛血清白蛋白溶液中保持稳定。

表 3 LE 与 LE@CsD 的蛋白率

样品	蛋白吸附率/%
LE	77.31
LE@CsD	0.05

4 结论

将 Eu³⁺ 掺杂到 LDHs 层板中, LE 具备明显的红色荧光, 用两亲性胶束 CsD 对 LE 进行包覆, 得到的 LE@CsD 并未改变 LE 的红色荧光。利用 FT-IR、

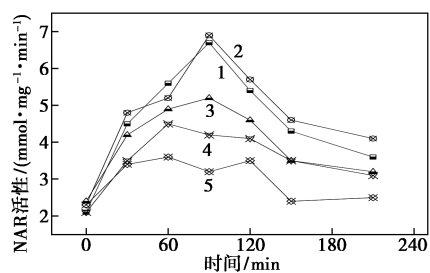
XRD、TG 以及粒度分析等表征手段, 证明 CsD 与 LE 成功复合, 同时 CsD 没有破坏 LE 的层状结构, 并且通过成功载入 5Fu 药物分子, 表明 LE@CsD 具备作为纳米药物载体的能力。

LE@CsD 在 PBS 缓冲液中的溶血率仅为 1.16%, 在牛血清白蛋白溶液中的吸附率仅为 0.05%, 说明层板表面带正电的 LE 被负电性的 CsD 包覆后, 纳米复合载体 LE@CsD 具有良好的生物相容性和体内稳定性。

参考文献

- [1] Guan S, Liang R, Li C, *et al.* A supramolecular material for dual-modal imaging and targeted cancer therapy [J]. *Talanta*, 2017, 165:297-303.
- [2] Chen Y, Wu Y, Sun B, *et al.* Two-dimensional nanomaterials for cancer nanotheranostics [J]. *Small*, 2017, 13(10):1-14.
- [3] Zhu Y, Zhu R, Wang M, *et al.* Cancer therapy: Anti-metastatic and anti-angiogenic activities of core-shell SiO₂@LDH loaded with etoposide in non-small cell lung cancer [J]. *Advanced Science*, 2016, 3(11):2198-3844.
- [4] Zuo H, Chen W, Cooper H M, *et al.* A facile way of modifying layered double hydroxide nanoparticles with targeting ligand-conjugated albumin for enhanced delivery to brain tumour cells [J]. *ACS Applied Materials Interfaces*, 2017, 9(24):20444-20453.
- [5] Wei P R, Cheng S H, Liao W N, *et al.* Synthesis of chitosan-coated near-infrared layered double hydroxide nanoparticles for in vivo optical imaging [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(12):5503-5513.
- [6] Wang J, Zhou J, Li Z, *et al.* Magnetic, luminescent Eu-doped Mg-Al layered double hydroxide and its intercalation for ibuprofen [J]. *Chemistry*, 2010, 16(48):14404-14411.
- [7] Stoica G, Castelló S I, Figuerola A, *et al.* Layered double hydroxides as carriers for quantum dots@silica nanospheres [J]. *Nanoscale*, 2012, 4(17):5409-5419.
- [8] Guan S, Liang R, Li C, *et al.* A layered drug nanovehicle toward targeted cancer imaging and therapy [J]. *J Mater Chem B*, 2016, 4(7):1331-1336.
- [9] Li D, Zhang Y T, Yu M, *et al.* Cancer therapy and fluorescence imaging using the active release of doxorubicin from MSPs/Ni-LDH folate targeting nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(32):7913-7922.
- [10] Feng Y, Hao H, Xu S, *et al.* Preparation and regulating cell adhesion of anion-exchangeable layered double hydroxide micropatterned arrays [J]. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2015, 7(7):3882-3887.
- [11] Chen Y, Wu Y, Sun B, *et al.* Two dimensional nanomaterials for cancer nanotheranostics [J]. *Small*, 2017, 13(10):1-14.
- [12] Liu H, Wu S, Yu J, *et al.* Reduction-sensitive micelles self-assembled from amphiphilic chondroitin sulfate A-deoxycholic acid conjugate for triggered release of doxorubicin [J]. *Materials Science Engineering*, 2017, 75:55-63.

(下转第 133 页)



1—R1;2—R2;3—R3;4—R4;5—R5

图7 TMP对反硝化过程关键酶NAR活性的影响

3 结论

(1)低质量TMP暴露对活性污泥除碳及脱氮影响不明显,而高于2.0 mg/LTMP降低了活性污泥对COD和 NH_4^+-N 去除,且8.0 mg/LTMP时COD和 NH_4^+-N 去除效率分别降低至71.6%~76.5%和75.6%~76.2%。

(2)高质量浓度TMP抑制了硝化与反硝化过程。高质量浓度TMP导致硝化系统中 NO_2^--N 积累,且当TMP质量浓度为8.0 mg/L时, NO_2^--N 的最大积累质量浓度高达6.5 mg/L。高质量浓度TMP降低合成废水中 NO_3^--N 的去除。

(3)TMP暴露能影响反硝化关键酶NAR活性,且TMP质量浓度超过2.0 mg/L时,NAR的活性受到抑制,进而降低反硝化效率。

参考文献

[1] 邝江濛.两种典型PPCPs的臭氧氧化降解及机理研究[D].北

京:清华大学,2013:23-50.

[2] 杨腾飞,张小寒,黄钰淇,等.磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对生物脱氮过程的影响规律[J].环境化学,2018,37(3):471-479.

[3] 陈炳伟,张朝升,刘至能,等.甲氧苄啶对好氧活性污泥硝化作用的长期影响[J].中国给水排水,2020,36(9):1-6.

[4] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].4版.北京:中国环境科学出版社,2002.

[5] 王瑶,刘玉香,安华,等.金属离子对粪产碱杆菌C16的脱氮和亚硝酸盐积累的影响[J].微生物学通报,2014,41(11):2254-2263.

[6] 刘锋,应光国,周启星,等.抗生素类药物对土壤微生物呼吸的影响[J].环境科学,2009,30(5):1280-1285.

[7] 魏彩莹,张静,任露露,等.厌氧氨氧化活性抑制、恢复与强化及工艺应用研究进展[J].应用与环境生物学报,2018,24(3):671-680.

[8] Frederic O, Yves P. Pharmaceuticals in hospital wastewater: Their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent[J].Chemosphere,2014,115:31-39.

[9] Oros-Ruiz S, Zanella R, Prado B. Photocatalytic degradation of trimethoprim by metallic nanoparticles supported on $\text{TiO}_2-\text{P}25$ [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 263: 28-35.

[10] Liu N, Liao P, Zhang J, et al. Characteristics of denitrification genes and relevant enzyme activities in heavy-metal polluted soils remediated by biochar and compost [J]. Science of the Total Environment, 2020, 739: 139987.

[11] Chen Y, Su X, Wang Y, et al. Short-term responses of denitrification to chlorothalonil in riparian sediments: Process, mechanism and implication [J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 358: 1390-1398. ■

(上接第128页)

[13] Wu S, Xie X, Cheng J, et al. Enhanced solubility and anticancer efficacy of curcumin by reduction-sensitive chondroitin sulfate A-ss-deoxycholic acid micelles [J]. Latin American Journal of Pharmacy, 2018, 37(1): 60-67.

[14] 叶君,李文浩,熊捷.不同pH值下制备的CMC/Eu纳米络合粒子的粒径及其分布与粒子荧光性质的关系[J].华南理工大学学报(自然科学版),2014,42(6):73-78,120.

[15] Wang J, Zhou J, Li Z, et al. Magnetic, luminescent Eu-doped Mg-Al layered double hydroxide and its intercalation for ibuprofen [J]. Chemistry-A European Journal, 2011, 16(48): 14404-14411.

[16] 黄博文,吕荣宾,陈建钧,等.镁铝水滑石的合成及其在废水脱磷中的应用研究[J].高校化学工程学报,2018,32(3):683-689.

[17] 柯国军,张琳,阳鹏飞,等.不同形貌镁铝水滑石的可控合成及其对氯离子的吸附性能[J].精细化工,2017,34(10):1107-1113.

[18] 夏志勇,杜娜,刘建强,等.聚乙二醇和叶酸对层状双金属氢氧化物颗粒的表面修饰[J].高等学校化学学报,2013,34(3):596-600.

[19] Tokudome Y, Morimoto T, Tarutani N, et al. Layered double hydroxide nanoclusters: Aqueous, concentrated, stable, and catalytically active colloids toward green chemistry [J]. ACS Nano, 2016, 10(5): 5550-5559.

[20] Morris S, Ananthapadmanabhan K P, Kasting G B. Anionic surfactant induced changes in skin permeability [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019, 108(11): 3640-3648. ■