

文章编号 1006-8147(2016)04-0354-05

论 著

pH/温度双重响应抗肿瘤药物微球的制备和研究

朱 颖

(天津医科大学第二医院药学部, 天津 300211)

摘要 目的:制备能够在人体正常生理温度及肿瘤细胞内部酸性环境中,可实现 pH/温度双重刺激响应性控制释药的抗肿瘤药物微球。方法:采用蒸馏-沉淀聚合法合成球形网状结构的载药微球,在表面沉积金纳米粒子,并用氯金酸还原法,将沉积在微球上的氯金酸中 Au^{3+} 还原为 Au^0 ,并通过细胞实验检测该微球的毒性。结果:成功合成聚合物微球 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP,发现其 pH/温度的可控释药特性以及在高浓度下仍然保持较低毒性。结论:初步评价了 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 聚合物微球作为抗肿瘤药物输送体系的潜力和优势。

关键词 蒸馏沉淀聚合;pH;温度;可控药物释放

中图分类号 R94

文献标志码 A

Preparation and application of pH/temperature double-responsive polymer microspheres on delivery of anti-tumor drugs

ZHU Ying

(Department of Pharmacy, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To prepare pH/temperature dual stimuli responsive polymer microspheres on controlled release of anti-tumor drugs at normal human body temperature and in acid environment for tumor cells. **Methods:** The drug carrier microspheres with spherical mesh structure were synthesized via distillation-precipitation polymerization. Gold nanoparticles were deposited on the surface of obtained microspheres, and then the Au^{3+} was reduced to Au^0 by chloroauric acid reduction method. Finally, the toxicity of microspheres was tested using cell experiments. **Results:** The polymer microspheres P (MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP were successfully synthesized, which showed pH/temperature controlled drug release characteristic and low toxicity even at high concentration. **Conclusion:** The advantages of polymer microspheres P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP may function as a potential anti-tumor drug delivery system.

Key words distillation-precipitation polymerization; pH; temperature; controlled drug release

近年来,随着靶向抗肿瘤药物的研究与发展,多重刺激响应性药物载体应运而生,其制备和应用为攻克肿瘤带来了新机遇^[1-2]。然而,如何实现该类药物载体的可控制备及确保其随环境因素(如 pH^[3-5]、温度^[6]、氧化还原电位^[7-8]和光^[9]等)改变而精准协调地调整释药仍是研究者面临的两大挑战。目前纳米药物载体的肿瘤靶向大都依赖实体瘤组织的高通透性和滞留效应(enhanced permeability and retention, EPR 效应)原理,颗粒大小应设计在 10~300 nm 之间。叶酸(folic acid, FA)是应用较早的肿瘤靶向分子,且 FA 受体在大肠癌、卵巢癌和乳腺癌等上皮恶性肿瘤中有过表达^[10-12]。经 FA 修饰的载体可以通过受体介导的内吞作用被 FA 受体高表达的细胞高效摄取^[13]。阿霉素(doxorubicin, DOX)由于靶向性差,临床应用受到限制^[14]。若将 DOX 组装于纳米载体,既可以提高 DOX 靶向性,又可以延长其体内滞留时间,提高药物疗效^[15]。金纳米粒子(gold nanoparticles,

AuNP)是直径介于 1~100 nm 的金颗粒,具有生物相容性好、组织渗透性强、表面易于修饰等优点^[16]。有研究表明:AuNP 本身具有抗肿瘤血管生成作用^[17]。另外,AuNP 可以通过物理吸附、离子键结合、共价结合等方式结合抗肿瘤药物,组成 AuNP 载药系统^[18]。基于以上理论,本实验将 FA、DOX 和 AuNP 有效结合,制备大小合适的载药微球,既可以抗肿瘤血管生成,又可以抗肿瘤本身,发挥多靶点抗肿瘤作用。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 甲基丙烯酸 MAA(天津化学试剂公司);N,N'-亚甲基双丙烯酰胺 MBA(天津化学试剂公司);偶氮二异丁腈 AIBN(南开大学化工厂);甲基丙烯酸缩水甘油酯 GMA(上海阿拉丁试剂有限公司);乙腈 CN(天津杰尔正化工贸易有限公司);甲醇(天津利安隆博华医药化学有限公司);乙二胺 EDA(天津市光复精细化工研究所);叶酸 FA(南京博全科技有限公司);1-(3-(二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 EDC(西格玛奥德里奇贸易有限公

作者简介 朱颖(1987-),女,药师,硕士在读,研究方向:药剂学;
E-mail:576195126@qq.com。

司);N-羟基琥珀酰亚胺 NHS(上海阿拉丁试剂有限公司);氯金酸 HAuCl_4 (天津市风船化学试剂科技有限公司),所有药品均为分析纯。阿霉素 DOX(上海浩然生物技术有限公司);细胞培养基 DMEM (HyClone™ 公司);胎牛血清 FBS(HyClone™ 公司);青/链霉素 (Gibco™);0.25%胰蛋白酶-EDTA (1×) (生命科技公司);二甲基亚砜 DMSO (Sigma-Aldrich);水溶性四唑盐 WST-1 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(碧云天生物技术研究);实验用水均为超纯水。

1.1.2 仪器 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,BS124S);数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,KQ-500DB);离心机(Eppendorf, centrifuge 5810R);磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司,85-1);透射电镜(Hitachi, HT7700);紫外-可见吸收光谱仪(JASCO, V-570);元素分析仪(Perkin Elmer 2400);酸度计(上海精密科学仪器有限公司, PHS-25);透析袋(MWCO=7000)(天津市联星生物技术有限公司);纯水仪(MillipakOR40 (Millipore));高压灭菌锅(Hirayama);三用恒温水箱(金怡仪器厂);SW-CJ-1FD 型单人单面净化台(苏州净化设备仪器厂);培养瓶(Corning);2.0 mL 冻存管(Corning);微量移液器(Eppendorf); CO_2 培养箱(Forma Scientific);低温冰箱(Haier 公司);酶标仪(Promega™, GloMax® -Multi);离心机(Eppendorf, centrifuge 5810R);96 孔板(Costar);2470 自动伽玛计数器(Perkin Elmer 公司);CRC-25 活度计(美国 CAPINTEC.INC 公司);Scientific CL31R 低温冷冻离心机(美国 Thermo 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 制备聚合物微球

1.2.1.1 P(MAA-MBA)微球的制备:在 250 mL 的圆底烧瓶中,吸取单体 MAA 1.00 mL,然后加入交联剂 MBA(交联度为 10%)0.176 5 g 和溶剂乙腈 80 mL,超声使其完全溶解,然后加入引发剂 AIBN 0.023 5 g (其中,交联剂的量占单体量的 15%,引发剂占单体量的 2%)。圆底烧瓶上面依次连接刺型蒸馏管,蒸馏头,直型冷凝管,牛角管,磨口锥形瓶。冷凝管通水,将圆底烧瓶置于磁力搅拌电热套中加热,使反应体系在反应开始 20 min 时沸腾,30 min 时有乙腈从牛角管口滴入锥形瓶,继续反应 60 min 终止反应。反应终止时,末端锥形瓶中有约 40 mL 乙腈液体。待反应体系自然降温后,产物离心(12 000 r/min, 10 min)获得,用乙腈洗 3 次,在真空干燥箱中干燥至恒重。

1.2.1.2 P(MAA-MBA)-EDA-FA 微球的制备:向无水甲醇(6 mL)中加入 P(MAA-MBA)聚合物微球 0.04 g,超声使其分散,加入 EDA(3 mL),25 °C 下搅拌 2 d,离心得到 P(MAA-MBA)-EDA 聚合物微球,用无水甲醇洗 3 次,在真空干燥箱中干燥至恒重。取 FA(0.04 g, 0.09 mmol)超声溶于 DMSO(4 mL)中,加入活化剂 EDC(0.035 g, 0.18 mmol)和 NHS(0.021 g, 0.18 mmol),溶解,37 °C 下搅拌 60 min,活化。将前一步得到的 P(MAA-MBA)-EDA 微球(0.04 g)加入该黄色透明液体中,继续避光搅拌 3~4 d,离心得到 P(MAA-MBA)-EDA-FA 聚合物微球,用 DMSO 和水洗至紫外-可见吸收光谱仪检测不到上清中的 FA 分子。在真空干燥箱中干燥至恒重。

1.2.1.3 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球的制备:取 P(MAA-MBA)-EDA-FA 聚合物微球 0.08 g,溶于 40 mL 去离子水中,超声使其分散,依次加入 0.4 mL 1%柠檬酸钠,0.2 mL 1% HAuCl_4 ,之后,在剧烈搅拌下,缓慢逐滴滴加羟胺 NH_2OH (80 mmol·L⁻¹, 0.2 mL),继续磁力搅拌,其间用超声分散,防止其聚集,反应 30 min 后,产物离心(12 000 r/min, 10 min),得到 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 聚合物微球,用去离子水洗 3 遍。产物在真空干燥箱中干燥至恒重。

1.2.2 载药性能研究 考察 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 聚合物微球的药物负载和释放性能,选用的是传统化疗药物阿霉素 DOX。具体做法如下:将一系列不同初始浓度的 DOX 溶液分别与相同量的 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球(0.5 mg·mL⁻¹)混合均匀,置于摇床上,室温条件下避光摇晃 24 h。离心得到负载 DOX 的聚合物微球,并通过紫外-可见吸收光谱仪测定其上清在 480 nm 处的吸收值,代入 DOX 标准曲线计算得到上清中 DOX 的浓度。初始溶液中 DOX 的总量与负载后上清溶液中 DOX 的量之差即为负载在该聚合物微球上的 DOX 药量。聚合物微球的载药量和包封率由以下公式计算得到:

$$\text{Drug loading capacity} = (W_{\text{administered dose}} - W_{\text{residual dose in solution}}) / W_{\text{microspheres}} \times 100\%$$

$$\text{Encapsulation efficiency} = (W_{\text{administered dose}} - W_{\text{residual dose in solution}}) / W_{\text{administered dose}} \times 100\%$$

其中, $W_{\text{administered dose}}$ 指初始溶液中 DOX 的总量, $W_{\text{residual dose in solution}}$ 指负载后上清溶液中 DOX 的残余量, $W_{\text{microspheres}}$ 指用于载药微球的量。

1.2.3 体外释药研究 根据载药性能研究的结果,选择载药 DOX 溶液初始浓度为 $9.135 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球($5 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$),

分别在不同 pH 值的磷酸缓冲溶液 ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 5.5 或 7.4) 中和不同温度 (25°C 或 37°C) 下进行体外释药研究。具体做法如下: 载药微球超声分散于 12 mL 水中, 等分为 4 份, 分别置于截留分子量为 7 000 的透析袋中, 再将透析袋分别置于 4 个不同条件 (pH 和温度) 下的 60 mL 磷酸缓冲溶液中, 在释药容器内连续搅拌进行释药, 每个条件平行做 3 组。在每个设定的时间点均从释药容器内取出 2.0 mL 缓冲溶液, 测定其在 480 nm 处的吸收, 计算得到其中 DOX 的浓度。为保持药物释放体系的体积不变, 每次取样后向容器内补加相同条件的等量新鲜的磷酸盐缓冲盐溶液。以停止释药实验时穿过透析膜释放的药物分子总量表示累积释放药量。

1.2.4 聚合物微球的细胞毒性研究

1.2.4.1 聚合物微球的细胞毒性检测: 人乳腺癌细胞 MCF-7 培养于含 10% 胎牛血清 FBS 和 1% 青/链霉素的细胞 DMEM 培养液中, 在 5% CO_2 、 37°C 的培养箱中培养, 长满后用 0.25% 胰酶消化, 以 1:3 传代。按约 5 000 个细胞每孔的浓度接种于 96 孔细胞培养板中, 每孔终体积为 0.2 mL, 5% CO_2 、 37°C 的培养箱中培养 1 d 后, 按 1、10、100、500、1 000、2 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度分别加入 P (MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球。微球事先经过 Co^{60} 照射灭菌, 每个浓度设置 3 个复孔。培养 48 h 后, 吸弃 96 孔内的培养基, 用无菌的 PBS 溶液洗 3 次, 并向孔板内加入新鲜的 DMEM 基本培养基 0.1 mL 和 WST 显色剂 0.01 mL。培养 1 h 后, 在酶标仪上测定 450 nm 波长处每孔的吸光值, 以未加载体的孔作为对照孔, 以空白孔作为调零孔, 按公式计算上述培养基中的相对细胞存活率:

$$W = (A - A_0) / (A_1 - A_0) \times 100\%$$

其中, W 为相对细胞存活率, A 为实验孔吸光值, A_0 为空白孔吸光值, A_1 为对照孔吸光值。

1.2.4.2 载 DOX 聚合物微球和游离 DOX 的细胞毒性比较: 根据 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球对 DOX 的负载量, 向经 Co^{60} 照射灭菌的载体溶液中加入已知浓度的 DOX 溶液, 混合均匀后置于摇床上, 避光温和地摇晃 24 h, 使 DOX 负载于载体之上, 制备载药 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球溶液。按照 1.2.4.1 的方法, 将 MCF-7 细胞传代于 96 孔板中, 在培养箱中培养 1 d 后, 按 0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DOX 浓度分别加入载药微球溶液, 以相同浓度的游离 DOX 溶液处理组作为对照, 每个浓度设置 3 个复孔。在培养箱中培养 48 h 后吸弃 96 孔内的培养基, 用无菌的 PBS 溶液洗 3 次, 并

向孔板内加入新鲜的 DMEM 基本培养基 0.1 mL 和 WST 显色剂 0.01 mL。培养 1 h 后, 在酶标仪上检测, 测定方法同上。

2 结果

2.1 聚合物微球的表征

2.1.1 TEM 表征 取各步骤制得的聚合物微球, 分别制备样品, 吸取一滴滴在碳膜铜网上, 待自然晾干后于透射电镜下观测并摄影记录 (图 1)。TEM 图片表明, 各步所得微球均为单分散、大小均匀的球形聚合物, 且最后制得的 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 聚合物微球平均粒径大小约 230 nm。

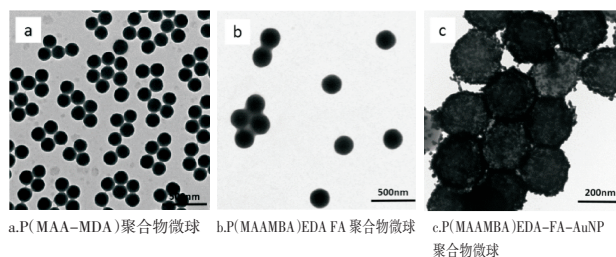
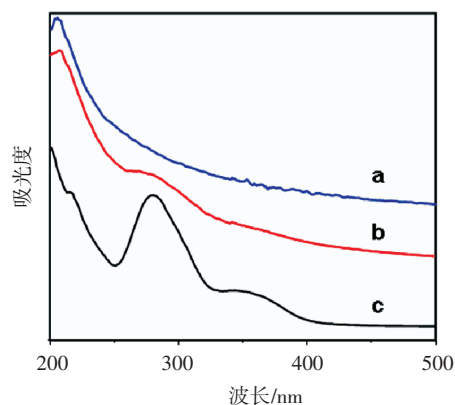


图 1 聚合物微球透射电镜图片

Fig 1 TEM images of polymer microspheres

2.1.2 UV 光谱检测 采用紫外-可见吸收光谱仪 (UV-siv) 分别检测 FA 修饰前的 P(MAA-MBA) 微球和 FA 修饰后的 P(MAA-MBA)-EDA-FA 微球的紫外吸收光谱图。分别将样品分散于蒸馏水中, 稀释至适当浓度, 加入比色池中扫描样品, 扣除蒸馏水的吸收后得到样品的紫外吸收曲线 (图 2)。由图 2 可以看出, FA 修饰后的微球 (分散于蒸馏水中) 在约 283 nm 出现一个吸收峰 (b), 与游离的 FA 分子在 280 nm 处的强吸收 (c) 表现一致。这说明 FA 被成功连接到聚合物微球上。



a. P(MAA-MBA) 微球; b. P(MAA-MBA)-EDA-FA 微球; c. FA 分子

图 2 聚合物微球紫外吸收图谱

Fig 2 UV absorbance spectra of polymer microspheres

2.1.3 Zeta 电位测试 将聚合物微球分别超声分散于蒸馏水中,采用激光粒度分析仪分别检测各聚合物微球的 Zeta 电位。其中, P(MAA-MBA)-EDA 用磷酸钠盐缓冲溶液调至 pH 4。聚合物微球 P(MAA-MBA)、P(MAA-MBA)-EDA 和 P(MAA-MBA)-EDA-FA 的 Zeta 电位值(mV)分别为-48.3、-3.4、-46.6。这说明加入 EDA 引入氨基,聚合物带电性明显正向移动。

2.1.4 元素分析 取适量聚合物微球 P(MAA-MBA)、P(MAA-MBA)-EDA 和 P(MAA-MBA)-EDA-FA, 分别测定其 N 含量为 2.72%、3.78%、4.38%。

2.2 微球载药性能研究 等量的 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球分别与一系列不同初始浓度的 DOX 溶液混合,其载药量和包封率如图 3 所示。在一定范围内, P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球的载药量随着 DOX 溶液初始浓度的增加而不断增大,而包封率则随着 DOX 溶液初始浓度的增加而不断减小。当 DOX 溶液的初始浓度为 $1206 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,微球的载药量为 198.4%,包封率为 82.3%。此时, P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球的载药量达到饱和,不再随初始 DOX 的量的增加而增大。

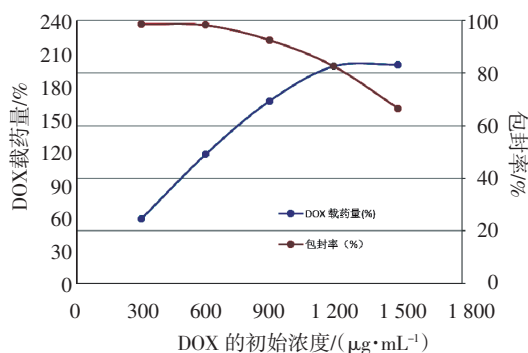


图3 不同初始浓度 DOX 溶液下 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球的载药量和包封率

Fig 3 The drug loading capacity and encapsulation efficiency of P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP microspheres at different initial DOX concentrations

2.3 体外释药研究 本研究选择负载 DOX 的 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球(载药量为 173.0%),在不同 pH 值(pH 5.5 或 7.4)和不同温度(25℃或 37℃)下对其释药行为进行考察,其药物累积释放率对时间的折线图见图 4。

由图 4 可知,在 pH 为 7.4、温度为 25℃的缓冲液中,DOX 的累积释放率很低,仅约为 18%;在 pH

为 5.5 温度为 37℃的缓冲液中 DOX 的累积释放率最大,约为 81%。当温度相同时 pH 为 5.5 的 DOX 累积释放率均大于 pH 为 7.4 的 DOX 累积释放率,当 pH 相同时,37℃的 DOX 累积释放率均大于 25℃的 DOX 累积释放率。由此说明,在人体正常生理温度条件下,载药聚合物微球的释放速率和累积释放率大于室温,且在内环境为偏酸性的肿瘤细胞中的释放速率和累积释放率均大于其在内环境偏碱性的人体正常细胞中的释放速率和累积释放率。

2.4 聚合物微球的细胞毒性研究

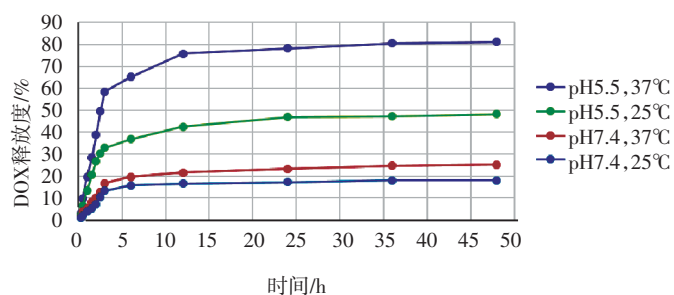


图4 载 DOX 的 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球在不同 pH 和不同温度下的药物释放曲线

Fig 4 The controlled release of DOX from DOX-loaded P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP microspheres under different pH values, and at different temperatures

2.4.1 聚合物微球的细胞毒性检测 WST-1 试验结果表明, P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球在高浓度($2000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)下对细胞生长依然无明显影响,具备低毒性,见图 5。

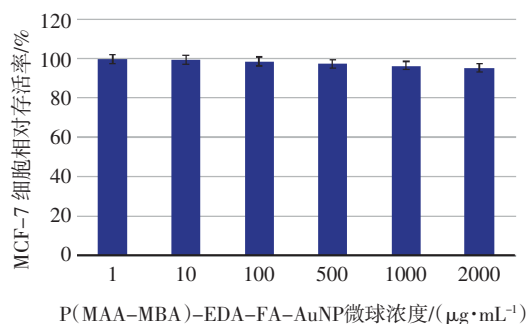


图5 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球处理后 MCF-7 细胞的相对生存率

Fig 5 Relative cellular viability of MCF-7 cells after treatment with P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP microspheres

2.4.2 载 DOX 聚合物微球和游离 DOX 的细胞毒性比较 本研究继续采用 WST-1 实验进一步评估负载 DOX(载药量为 173.0%)的 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球对肿瘤细胞 MCF-7 的杀伤作

用,以等量的 DOX 处理组作为对照。结果表明,载 DOX 微球与等量 DOX 具有相近的细胞毒性,见图 6。

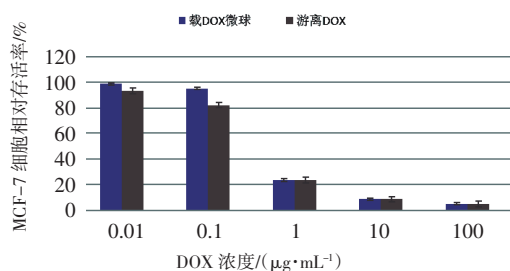


图6 游离 DOX 和负载 DOX 的 P (MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 微球处理后 MCF-7 细胞的相对生存率

Fig 6 Relative cellular viability of MCF-7 cells after treatment with free DOX and DOX-loaded P (MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP microspheres

3 讨论

本课题用蒸馏-沉淀聚合法制备了一种表面光滑大小均一且具有肿瘤靶向性的药物载体。该载体可以有效运载抗肿瘤药物 DOX 到达肿瘤部位,并通过受体介导的内吞作用将其运输至细胞内部,并在人体正常生理温度及肿瘤细胞内部的酸性环境中实现 pH/温度双重响应性控制释药,提高 DOX 对肿瘤细胞杀伤作用的同时降低了对正常组织和细胞的毒副作用。本课题初步评价了 P(MAA-MBA)-EDA-FA-AuNP 聚合物微球作为抗肿瘤药物输送体系的潜力和优势。

参考文献:

- [1] Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, et al. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery[J]. J Control Release, 2008, 126(3):187
- [2] Luo Z, Cai K Y, Hu Y, et al. Redox-responsive molecular nanoreservoirs for controlled intracellular anticancer drug delivery based on magnetic nanoparticles[J]. Adv Mater, 2012, 24(3): 431
- [3] Apostolovic B, Klok H A. PH-sensitivity of the E3/K3 heterodimeric coiled Coil[J]. Biomacromolecules, 2008, 9(11): 3173
- [4] Auguste D T, Furman K, Wong A, et al. Triggered release of siRNA

- from poly (ethylene glycol)-protected, pH-dependent liposomes[J]. J Control Release, 2008, 130(3): 266
- [5] Chiu H C, Lin Y W, Huang Y F, et al. Polymer vesicles containing small vesicles within interior aqueous compartments and pH-responsive transmembrane channels[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2008, 47(10): 1875
- [6] Sundararaman A, Stephan T, Grubbs R B. Reversible restructuring of aqueous block copolymer assemblies through stimulus-induced changes in amphiphilicity[J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(37): 12264
- [7] Wen H, Dong C, Dong H, et al. Engineered redox-responsive PEG detachment mechanism in PEGylated nano-graphene oxide for intracellular drug delivery[J]. Small, 2012, 8(5): 760
- [8] Oumzil K, Khiati S, Grinstaff M W, et al. Reduction-triggered delivery using nucleoside-lipid based carriers possessing a cleavable PEG coating[J]. J Control Release, 2011, 151(2): 123
- [9] Jiang J, Tong X, Zhao Y. A new design for light-breakable polymer micelles[J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(23): 8290
- [10] Ottaviano F G, Handy D E, Loscalzo J. Redox regulation in the extracellular environment[J]. Circ J, 2008, 72(1): 1
- [11] Saito G, Swanson J A, Lee K D. Drug delivery strategy utilizing conjugation via reversible disulfide linkages: role and site of cellular reducing activities[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2003, 55(2): 199
- [12] Leamon C P, Cooper S R, Hardee G E. Folate-liposome-mediated antisense oligodeoxynucleotide targeting to cancer cells: evaluation in vitro and in vivo[J]. Bioconjug Chem, 2003, 14(4): 738
- [13] Weitman S D, Lark R H, Coney L R, et al. Distribution of the folate receptor GP38 in normal and malignant cell lines and tissues[J]. Cancer Res, 1992, 52(12): 3396
- [14] Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, et al. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity[J]. Pharmacol Rev, 2004, 56(2): 185
- [15] Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2002, 54(5):631
- [16] Boisselier E, Astruc D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity[J]. Chem Soc Rev, 2009, 38(6):1759
- [17] 潘运龙,邱思远,孙加升,等.纳米金阻断 VEGF165 信号传导并抑制裸鼠肝癌血管生成[J].中国肿瘤临床, 2009, 36(5):287
- [18] Ghosh P, Han G, De M, et al. Gold nanoparticles in delivery applications[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(11):1307

(2015-12-28 收稿)