

• 药剂与工艺 •

PEG 修饰介孔硅纳米粒子负载丹参素的体外控制释放研究

袁宁宁¹, 谢鹏波¹, 侯慧玉¹, 王 婕¹, 林坚涛^{2*}, 王冠海^{2*}

1. 广州工程技术职业学院, 广东 广州 510075

2. 广东医学院, 广东 东莞 523808

摘要: 目的 设计制备一系列 PEG 修饰的介孔硅纳米粒子 (MSNs-PEG), 用于负载丹参素的药物传输载体。方法 通过与硅烷偶联剂共水解缩合的方法, 在介孔硅纳米粒子 (MSNs) 中引入数量可控的叠氮基, 然后通过点击化学的方法, 在 MSNs 表面引入数量可控的 PEG 链段, 并通过傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、X 射线粉末衍射 (XRD)、Zeta 电位和透射电子显微镜 (TEM) 等方法表征 MSNs-PEG, 通过 MTT 法对 MSNs-PEG 载体的安全性进行初步评价, 体外释放实验考察 MSNs-PEG 负载丹参素的释放规律。结果 PEG 能够有效、可控地接枝到 MSNs 上, 使 MSNs-PEG 具有良好的水分散性和稳定性。通过负载丹参素实验发现, MSNs-PEG 对丹参素的负载率较高, 其载药量和包封率分别为 6.8% 和 22.8%。体外释放规律发现, PEG 的接枝改变了药物的释放规律, 能够有效延长丹参素的释放时间; 随着 PEG 接枝量 (质量分数) 的提高, 能够有效控制丹参素的释放速率。结论 点击化学法能够有效地控制 PEG 接枝量 (质量分数), 并有效地控制丹参素的释放速度, 方法简单易行。

关键词: 介孔硅纳米粒子; PEG 修饰; 丹参素; 体外释药; 叠氮基; 点击化学; 安全性

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)14-2441-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.008

Study on *in vitro* controlled release of danshensu based on PEG modified of mesoporous silica nanoparticlesYUAN Ning-ning¹, XIE Peng-bo¹, HOU Hui-yu¹, WANG Jie¹, LIN Jian-tao², WANG Guan-hai²

1. Guangzhou Institute of Technology, Guangzhou 510075, China

2. Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China

Abstract: Objective To prepare a series of polyethylene (PEG)-modified mesoporous silica nanoparticles (MSNs-PEG) used for danshensu delivery carrier. **Methods** By the co-hydrolysis method with silica coupling agent, the content of the azide groups was controlled into MSNs. The structures of MSNs-PEG were characterized by FTIR, XRD, and TEM analyses. The results showed that PEG chains have been grafted on the surface of MSNs. The safety of MSNs-PEG carrier was preliminarily evaluated by MTT, the release rule of MSNs-PEG was investigated by *in vitro* release experiment. **Results** PEG can be effectively and controlled grafted onto MSNs. The MSNs-PEG have the good stability in aqueous solution. The loading rate of MSNs-PEG was higher in the experimental results of danshensu. The drug loading and entrapment efficiency were 6.8 % and 22.8 %. The graft of PEG could change the release of the drug, which could effectively prolong the time of drug release. And with the increase of the amount of PEG (mass fraction), the release time of danshensu could be prolonged effectively. **Conclusion** The click chemistry method is easy to control the PEG graft content, and effectively controls the release rate of danshensu.

Key words: mesoporous silica nanoparticles; PEG modified; danshensu; *in vitro* controlled release; azide group; click chemistry; safety

收稿日期: 2016-03-02

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81402563); 广东医学院博士启动项目 (XB1303, XB1387)

作者简介: 袁宁宁 (1980—), 女, 讲师。E-mail: yuanner0628@163.com

*通信作者 林坚涛 (1981—), 男, 副研究员。E-mail: linjt326@163.com

王冠海 (1979—), 男, 助理研究员。Tel: (0769)22896547 E-mail: wanggh0628@163.com

介孔硅纳米粒子 (mesoporous silica nanoparticles, MSNs) 是 20 世纪 90 年代迅速兴起的一种新型有序介孔纳米材料, 具有纳米孔道结构规则、孔径可在 2~50 nm 连续可调、表面基团易于修饰、生物相容性良好等优点, 目前以 MSNs 为基础的多功能传输载体研究非常广泛^[1-4]。通过 MSNs 表面功能化修饰, 利用官能化的高分子、纳米粒子、蛋白质等作为纳米阀门, 将药物封装在孔道内部实现药物因 pH 值、生物环境等条件变化, 实现在组织内部的可控制释放^[5-6]。但是, 由于其粒径较大, 这一类传输载体在水溶液中容易聚集、沉淀, 从而限制其应用。聚乙二醇 (PEG) 具有良好的生物相容性、生物安全性和水溶性, 利用 PEG 化学修饰纳米粒子、纳米胶束, 可提高载体的水分散性和缓释能力^[7-8]。丹参素是从丹参中提取的一种水溶性的有效成分, 具有舒张血管、保护心肌细胞、抗炎、抗氧化作用^[7,9]。但是丹参素在碱性条件下易发生自氧化, 并且有研究发现丹参素生物利用度较低^[8]。为了提高丹参素的稳定性和循环释放时间, 本研究通过点击化学法, 在 MSNs 表面引入 PEG 链段, 制备了一系列负载丹参素的 MSNs-PEG 传输载体, 并系统考察了该传输载体的形态及药物的释放规律。

1 仪器与材料

Nicolet MX-1E 红外光谱 (FTIR) 仪, 德国 Bruker 公司; JEM-100CX 透射电子显微镜 (TEM), 日本电子株式会社; Zeta PALS 电位分析仪, 美国 Brookhaven; Rigaku Ultima IV diffractometer 射线粉末衍射 (XRD), 日本理学株式会社; TU1900 紫外分光光度计, 北京普析仪器有限公司。

3-氯丙基三乙氧基硅烷 (CPTES)、正硅酸乙酯 (TEOS)、十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB)、叠氮化钠、五水硫酸铜、抗坏血酸钠、对甲苯磺酰氯 (TsCl) 等购于安耐吉化学试剂公司; 聚乙二醇 (PEG, 相对分子质量 25 000)、聚乙烯酰亚胺 (PEI, 相对分子质量 25 000)、2-炔丙胺购于 Sigma-Aldrich 公司; 胎牛血清、杜氏改良液 (DMEM 液)、青霉素-链霉素、四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 和胰蛋白酶购于美国 Gibco 公司; 丹参素钠, 相对分子质量 220.16, 质量分数 99%, 广州市药品检验所, 批号 090843-201309; 其他试剂用为分析纯。

2 方法与结果

2.1 MSNs-PEG 纳米传输载体的制备

2.1.1 合成含叠氮基的 MSNs (MSN-N₃) 3-叠氮

基丙基三乙氧基硅烷 (APTES) 的合成采用文献方法^[10]。1.0 g CTAB 溶于 480 mL 水与 3.5 mL 2.0 mol/L NaOH 溶液中, 升温至 70 °C, 分别滴加 5.0 mL (22 mmol) TEOS 和不同比例 APTES (TEOS-APTES 100:5、100:7.5、100:10, 分别命名为 MSN-N₃5、MSN-N₃7.5、MSN-N₃10), 升温至 70 °C, 剧烈搅拌反应 2 h。反应完毕, 滤过沉淀物, 用甲醇洗涤, 将得到的产物分散在含有 2 mL 37% 浓盐酸的 50 mL 乙醇中, 80 °C 剧烈搅拌 10 h, 除去 CTAB, 最后滤过沉淀, 真空干燥, 即得^[10]。

2.1.2 合成端基含炔基的 PEG (炔基修饰 PEG) 取 2.0 g PEG (0.08 mmol) 溶于 20 mL CH₂Cl₂, 加入到含 0.38 g TsCl 的吡啶 (8.0 mL) 溶液中, 充分混合, 室温反应 24 h。反应完毕后, 用 50 mL 3 mol/L HCl 萃取, 有机层加入碳酸氢钠剧烈搅拌, 滤过, 滤液蒸干得白色粉末状粗产品。40 °C 搅拌下将产物溶于 10 mL 四氢呋喃 (THF) 中, 滴至乙醚中, 析出沉淀后滤过, 真空干燥。产物与 0.50 mL 炔丙胺于 100 °C 密闭反应 24 h, 然后冷却至室温, 用 CH₂Cl₂ 20 mL 萃取, 饱和 Na₂CO₃ 溶液反复洗涤 3 次后, 旋转除去溶剂, 真空干燥, 即得^[11]。

2.1.3 PEG 接枝 MSNs (MSNs-PEG) 将 0.50 g MSN-N₃ 分散于 8 mL 含 0.33 g (0.02 mmol) 炔基修饰 PEG 的二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液中, 在室温、氮气环境中搅拌 2 h。然后, 先后注入 0.10 mL 硫酸铜 (9 mg, 0.03 mmol) 水溶液和 0.15 mL 抗坏血酸钠 (25 mg) 水溶液, 50 °C、氮气条件下搅拌反应 24 h^[12]。离心分离, 蒸馏水反复分散洗涤离心 3 次, 除去未反应的 PEG, 沉淀冷冻干燥, 即得。根据 MSN-N₃ 样品中叠氮基的不同接枝量, PEG 接枝 MSNs 分别命名为 MSNs-PEG5、MSNs-PEG7.5、MSNs-PEG10。

2.2 FTIR 表征 MSNs-PEG

样品研磨成粉末, KBr 压片, FTIR 表征测试样品中基团的变化。图 1 为 MSN-N₃ (MSN-N₃5、MSN-N₃7.5、MSN-N₃10) 和 MSNs-PEG (MSNs-PEG5、MSNs-PEG7.5、MSNs-PEG10) 的 FTIR 光谱。由图 1-A 所示, 通过 TEOS 前驱体与含叠氮基的硅烷偶联剂共水解缩合后, 在 2 110 cm⁻¹ 处出现叠氮基的振动吸收峰, 并且随着叠氮基数量的提高, 2 110 cm⁻¹ 处的吸收峰强度也随之提高, 这表明通过共水解的方法, 能够有效、可控地在纳米粒子中引入叠氮基^[13-14]。点击化学反应后, FTIR (图 1-B) 显示

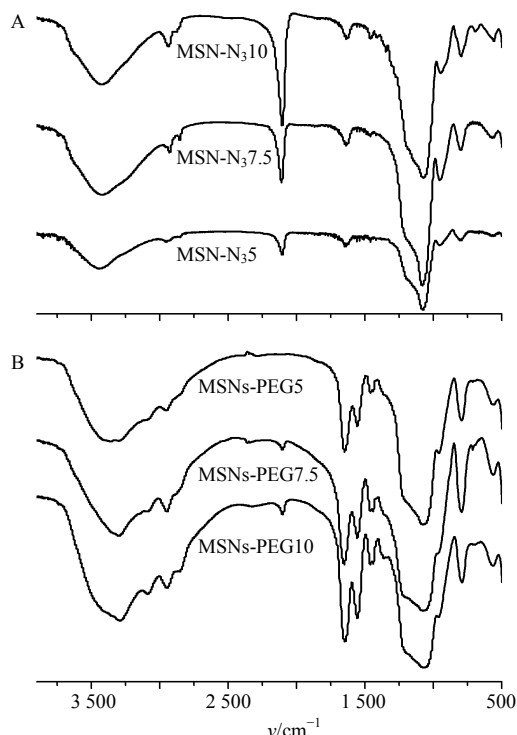


图 1 MSN-N₃ (A) 和 MSNs-PEG (B) 样品的 FTIR 图
Fig. 1 FTIR spectra of MSN-N₃ (A) and MSNs-PEG (B) samples

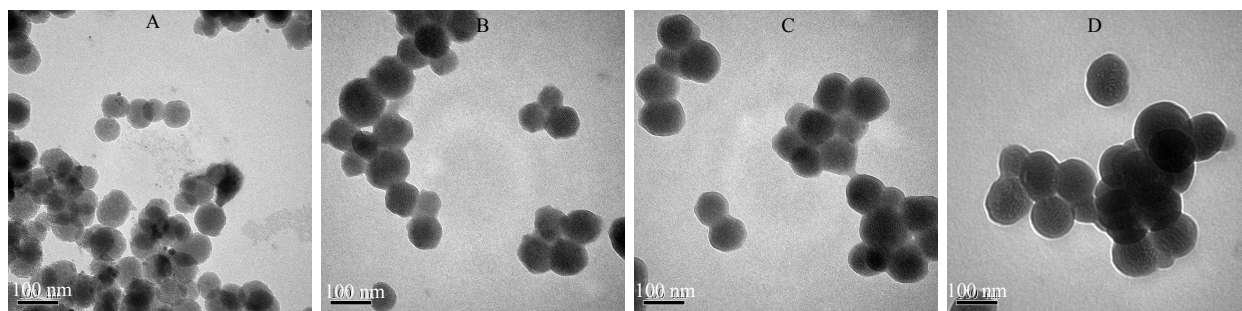


图 2 MSN-N₃ (A)、MSNs-PEG5 (B)、MSNs-PEG7.5 (C) 和 MSNs-PEG10 (D) 样品的 TEM 照片
Fig. 2 TEM images of MSN-N₃ (A), MSNs-PEG5 (B), MSNs-PEG7.5 (C), and MSNs-PEG10 (D)

产生了一定的粘连,这也充分说明了 PEG 分子链成功接枝到 MSNs 纳米粒子上。同时在纳米粒子表面能够清楚地观察到平行条带,这表明纳米粒子接枝后,载体仍然能够有效地维持纳米粒子的介孔结构。

粒度分析结果显示 MSNs、MSNs-PEG5、MSNs-PEG7.5、MSNs-PEG10 的平均粒径分别为 (106.0 ± 18.7) 、 (118.0 ± 22.5) 、 (126.0 ± 17.1) 、 (136.0 ± 10.9) nm,表明随着 PEG 接枝量的提高,纳米粒子的粒径随之提高,粒径可控制在 150 nm 左右。MSNs-PEG 的 Zeta 电位均趋向于 0 mV,主要是由于亲水性的 PEG 链能在 MSNs 的外层形成中性的 PEG 水

2 110 cm^{-1} 处的吸收峰消失,这说明纳米粒子中的叠氮基已经充分反应,并且在 1 450 cm^{-1} 处出现新的吸收峰,对应为点击化学反应生成的 1,2,3-咪唑环震动吸收峰。FTIR 表明,通过化学点击法,PEG 分子链成功接枝到纳米粒子。热失重数据分析表明,PEG 接枝到纳米载体的量(质量分数)可达 20% 左右,且接枝量(质量分数)随着叠氮基数量的升高而升高。

2.3 MSNs-PEG 形态表征

将样品粉末超声分散在水中。取适量滴加到铜网上,TEM 观察纳米粒子形态;通过 Zeta 电位分析仪测定纳米粒子的粒径;样品研磨成粉末,XRD 表征材料的有序结构,Cu 靶辐射,1°~10°散射角观察。图 2 为不同 PEG 接枝量的 MSNs-PEG 纳米粒子(MSNs-PEG5、MSNs-PEG7.5、MSNs-PEG10)的 TEM 照片,从图 2-A 可以看出,通过溶胶-凝胶法制得的 MSNs 粒径分散均匀,约 100 nm 左右,并且表面具有明显的孔道结构,药物分子可以封装到这些孔道中,提高载体的负载能力。由图 2-B~D 可以看出,MSNs 接枝 PEG 分子链后,可以清楚地观察到纳米粒子表面的聚合物层,粒子与粒子之间

化层,降低纳米胶束的电负性,能够有效地提高 MSNs-PEG 纳米粒子在水溶液中的稳定性。

XRD (图 3) 显示了纳米传输载体在 100、110、200 有 3 个面,这也说明点击化学反应并没有破坏纳米粒子有序结构,纳米粒子接枝 PEG 后,依然能够保持粒子的介孔结构^[15]。

2.4 MSNs-PEG 安全性考察

MTT 法测定载体的体外细胞毒性。将 293T 细胞接种于含有 DMEM (含 10% 胎牛血清) 的 96 孔细胞培养板 (1×10^4 细胞/孔) 中,每孔培养基终体积为 200 μL ,37 °C、5% CO_2 环境下培养 24 h,待

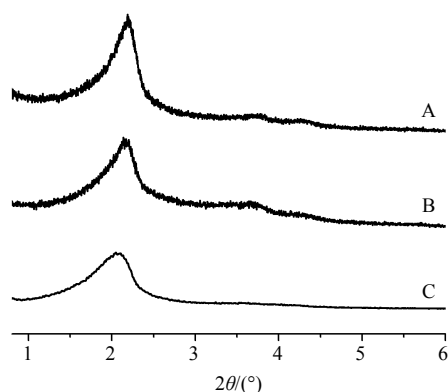


图3 MSNs-PEG5 (A)、MSNs-PEG7.5 (B) 和 MSNs-PEG10 (C) 样品的 XRD 图

Fig. 3 XRD patterns of MSNs-PEG5 (A), MSNs-PEG7.5 (B), and MSNs-PEG10 (C)

细胞长到 80% 左右, 吸去培养液, 加入无血清培养液, 在细胞孔中加入不同质量浓度的载体溶液, 每个浓度组设 5 个复孔。24 h 后, 每孔加入 20 μL MTT, 继续培养箱内孵育, 4 h 后将培养基和 MTT 吸出, 加入 150 μL DMSO, 摇床摇匀 15 min, 在酶标仪上 490 nm 波长处检测吸光度 (A_{490}) 值。根据下面的公式计算细胞存活率: 细胞存活率 = $A_{490 \text{ 样品}}/A_{490 \text{ 对照}}$, 其中 $A_{490 \text{ 样品}}$ 、 $A_{490 \text{ 对照}}$ 分别在 MSNs-PEG 和聚乙烯酰亚胺 (PEI) 下获得。结果如图 4 所示, 由图 4 可以看出, PEG 化的 MSNs 显示出较低的细胞毒性和良好的生物相容性, 细胞的存活率可以维持在 90% 以上, 说明纳米粒子不会影响细胞的生长。并且从图 4 中可以看出, 在不同浓度样品溶液中, 细胞存活率基本随着 PEG 接枝量的提高而提高, 这也说明了在载体中引入 PEG 分子链, 能够有效提高 MSNs-PEG 传输载体的生物安全性和降低细胞毒性。

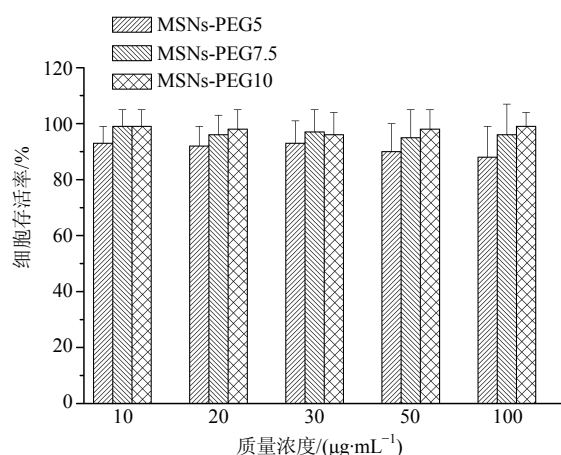


图4 MTT 法评价 MSNs-PEG 纳米粒子的安全性

Fig. 4 Safety evaluation of various MSNs-PEG by MTT

2.5 丹参素/MSNs-PEG 载体制备及丹参素的定量分析

2.5.1 负载丹参素载体的制备 取 PEG 不同接枝量的 MSNs-PEG 样品 50 mg, 分散于 5 mL 含丹参素的甲醇溶液 (丹参素质量浓度 10.0 mg/mL) 中, 避光搅拌 24 h, 离心收集沉淀, 以甲醇洗涤载体, 除去未被吸附的丹参素, 所得样品冷冻干燥, 即得负载丹参素的丹参素/MSNs-PEG 载体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 备用。

2.5.2 丹参素标准曲线绘制 丹参素定量测定方法参考课题组前期工作进行^[8]: 精密称取丹参素钠对照品 10 mg, 溶于 10 mL 甲醇中。分别精密吸取对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。紫外分光光度计 280 nm 处测定 A 值, 绘制标准曲线, 进行线性回归得回归方程 $Y=102.71X+8.242$, $r=0.9999$, 线性范围为 10.2~102.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5.3 精密度试验 精密吸取丹参素低、中、高质量浓度 (10.2、51.0、102.0 $\mu\text{g/mL}$) 对照品溶液 3 mL, 分别于 1 d 内测定 5 次, 连续测定 3 d, 记录 A 值, 计算日内及日间精密度。日内精密度 RSD 分别为 0.92%、1.15%、1.67%, 日间精密度 RSD 分别为 1.07%、0.88%、0.92%, 符合方法学要求。

2.5.4 稳定性试验 分别称取不同负载丹参素的载体 0.10 g, 加入 pH 7.4 的 PBS 缓冲液 10 mL, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中释放。吸取释放液的供试品溶液, 分别测定 0、0.5、1、2、4、7、10 h 时 A 值。结果表明, A 值的 RSD 为 1.63%, 表明在 10 h 内样品溶液稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 精密吸取同一批丹参素/PEG-MSNs 释放液的供试品溶液 3 mL, 连续测定 5 次, 测定 A 值, RSD 为 1.89%。

2.5.6 加样回收率试验 精密量取 5 份已测定的丹参素/MSNs-PEG 释放液所制备的供试品溶液 2.5 mL, 加入含丹参素 10.2 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液 0.5 mL, 摇匀制成 5 份供试液, 分别测定 A 值, 计算回收率, 丹参素的平均回收率为 $(99.60 \pm 0.97)\%$, RSD 为 1.29%。

2.5.7 包封率及载药量的测定 采用“碱破壳”方法测定载药量, 利用标准曲线计算出丹参素的载药量和包封率, 其载药量和包封率分别为 6.8% 和 22.8%。具体步骤如下: 称取 20 mg 丹参素/MSNs-PEG, 加入 20 mL 0.20 mol/L 的 NaOH 溶液中, 震

荡反应 24 h, 用紫外-可见分光光度计测定 A 值, 根据标准曲线计算丹参素的质量浓度, 分别按照下面的公式计算丹参素/MSNs-PEG 颗粒的载药量和包封率, 重复实验 3 次取平均值。

载药率 = 颗粒中药物的质量 / 称取的颗粒质量

包封率 = 载药颗粒上的药物量 / 实际投药量

2.6 丹参素体外释放研究

分别称取负载丹参素的载体 0.10 g, 加入 pH 7.4 的 PBS 缓冲液 10 mL, 在 37 °C 水浴中进行释放。分别于 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、24、36 h 取样 3 mL, 同时用 pH 7.4 的 PBS 缓冲液补足取出量。每个样品取 3 个重复样品进行测定。以时间为横坐标, 药物的累积释放率为纵坐标作图, 结果见图 5。

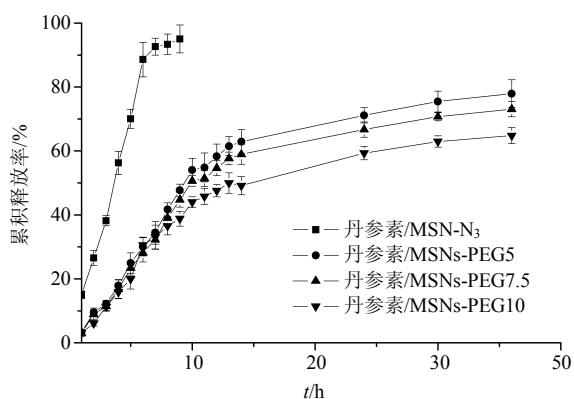


图 5 MSNs-PEG 纳米传输载体负载丹参素的累积释放率 ($n = 3$)

Fig. 5 Cumulative release rate of drug released from MSNs-PEG nanocarriers ($n = 3$)

控制和延缓药物的释放可提高药物的疗效, 因而药物的释放速率是评价药物传递系统的一个重要指标。采用美国 FDA 推荐使用的相似因子 (f_2) 法评价体外释放曲线差异, 以考察其内在质量的相似性^[16-17]。 f_2 数值的大小量度了 2 条释放曲线之间累积释放率的相似性。 f_2 越小, 表明 2 条释放曲线差异越大, 如果 $f_2 < 50$, 可认为 2 条释放曲线具有不同的释放特点。以丹参素/MSN- N_3 释放曲线为参比, 丹参素/MSNs-PEG5、丹参素/MSNs-PEG7.5 和丹参素/MSNs-PEG10 的 f_2 分别为 23.6、21.7 和 19.5, 这个结果表明, PEG 接枝到 MSN 粒子上, 极大地改变了丹参素的释放规律。

从图 5 中可以看出, 随着 PEG 接枝量的增加, 丹参素的累积释放率急剧下降。从累积释放曲线可看出, 没有 PEG 修饰过的 MSNs, 丹参素的释放速

度非常快, 在前 5 h 时, 累积释放率已经超过 70%, 处于爆释状态^[18], 10 h 左右时, 药物释放已经基本达到平衡。而 PEG 接枝 MSNs 后, 使丹参素的释放速度明显得到控制, 释药曲线相对比较平稳, 在 10 h 时, 累积释放率达到 50% 左右, 并且随着 PEG 接枝量的提高, 10 h 时的累积释放率下降到 40% 左右。这表明增加 PEG 接枝量的提高, 可以有效控制药物的释放速率, 降低药物初期的爆释。

3 讨论

MSNs 接枝 PEG 的接枝量主要是通过 MSNs 中叠氮基的数量来控制, 而叠氮基是通过硅烷偶联剂与前驱体共水解缩合的方法定量引入。从理论上讲, 叠氮基的数量可以在很大的范围内调节, 但是实验中发现, 含有叠氮基的硅烷偶联剂质量分数超过 15% 时, 会导致纳米粒子的介孔结构消失, TEM 照片很难观察到粒子表面的有序结构。因此在制备传输载体时, 控制硅烷偶联剂的质量分数不超过 10%, 保持 MSNs 的结构基本一致。

FTIR 是表征 PEG 链段能否有效接枝到 MSNs 粒子上的有力测试手段, 通过表征样品中叠氮基的数量, 可以确定 MSNs 粒子中叠氮基反应程度。从 FTIR 测试结果看, MSNs 粒子中叠氮基基本消失, 这说明定量引入的叠氮基, 可以定量的引入 PEG 链段。TEM 和 XRD 测试结果表明, PEG 能够有效接枝到 MSNs 上, 并且能够保持纳米粒子的介孔特性; 粒度分析结果显示, PEG 修饰的介孔硅纳米粒子粒径保持在 100~150 nm。有效的粒径控制和 PEG 的引入, 使纳米粒子在水中具有良好的水分散性和稳定性。

通过负载丹参素发现, 纳米粒子的介孔结构能够大量负载丹参素, 这有利于提高载体的负载率和负载效率, 为高效的传输载体提供了基础。亲水性的 PEG 接枝 MSNs 粒子, 在纳米粒子外层形成水化层, 能够有效提高 MSNs-PEG 纳米粒子在水溶液中稳定性, 而且 PEG 的接枝, 改变了药物的释放规律, 能够有效延长丹参素的释放时间, 并随着 PEG 接枝量的提高, 能够有效控制丹参素的释放速度。

参考文献

- [1] Argyo C, Weiss V, Bräuchle C, *et al.* Multifunctional mesoporous silica nanoparticles as a universal platform for drug delivery [J]. *Chem Mater*, 2014, 26(1): 435-451.
- [2] Goel S Y, Chen F, Hong H, *et al.* EGF₁₂₁ conjugated mesoporous silica nanoparticle: A tumor targeted drug

- delivery system [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(23): 21677-21685.
- [3] Lee J E, Lee N, Kim T, *et al.* Multifunctional mesoporous silica nanocomposite nanoparticles for theranostic applications [J]. *Acc Chem Res*, 2011, 44(10): 893-902.
- [4] 唐佳民, 张瑞涛. 介孔二氧化硅纳米粒的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(11): 1422-1426.
- [5] 李菲菲, 张馨欣, 郭仕艳, 等. pH 敏感性的脂质-介孔硅核/壳纳米粒作为抗肿瘤药物新型载体的初步研究 [J]. *药学报*, 2013, 48(2): 291-297.
- [6] Lin J T, Wang C, Wang G H. Mesoporous silica nanoparticles with controlled loading of cationic dendrimer for gene delivery [J]. *Mater Res Express*, 2014, 1(3): 035403.
- [7] 徐元超, 杨 屹, 杜立波, 等. 丹参素自氧化与促氧化机理 [J]. *物理化学学报*, 2010, 26(7): 1737-1741.
- [8] 赵广荣, 田莉莉, 王长松. 丹参素的抗癌活性研究 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(3): 180-182.
- [9] 林坚涛, 张衍宁, 黄 浩, 等. 静电纺丝法制备丹参素-聚己内酯纳米纤维支架 [J]. *中草药*, 2014, 45(13): 1850-1855.
- [10] Schlossbauer A, Schaffert D, Kecht J, *et al.* Click chemistry for high-density biofunctionalization of mesoporous silica [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130(38): 12558-12559.
- [11] Oliveira J R, Martins M C L, Mafra L, *et al.* Synthesis of an *O*-alkynyl-chitosan and its chemoselective conjugation with aPEG-like amino-azide through click chemistry [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 87(1): 240-249.
- [12] Deng J J, Zhou Y F, Xu B, *et al.* Dendronized chitosan derivative as a biocompatible gene delivery carrier [J]. *Biomacromolecules*, 2011, 12(3): 642-649.
- [13] Zhang G G, Liu J, Yang Q Z, *et al.* Disulfide-containing brushed polyethylenimine derivative synthesized by click chemistry for nonviral gene delivery [J]. *Bioconjugate Chem*, 2012, 23(6): 1290-1299.
- [14] Deng J J, Li N, Mai K J, *et al.* Star-shaped polymers consisting of a cyclodextrin core and poly(amidoamine) dendron arms: binding and release studies with methotrexate and siRNA [J]. *J Mater Chem*, 2011, 21(14): 5273-5281.
- [15] Chen Y, Chen H R, Zhang S J. Multifunctional mesoporous nanoellipsoids for biological bimodal imaging and magnetically targeted delivery of anticancer drugs [J]. *Adv Funct Mater*, 2011, 21(2): 270-278.
- [16] 祝丽欣, 陈 芝, 郭 莹, 等. f_2 相似因子法评价银杏酮酯缓释微丸大类成分总黄酮和各类成分的体外释放相关性研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(23): 3482-3489.
- [17] 谢沐风. 溶出曲线相似性的评价方法 [J]. *中国医药工业杂志*, 2009, 40(4): 308-310.
- [18] 李玉慧, 袁亚莉, 徐文慧, 等. 两种介孔硅材料对布洛芬控制释放的研究 [J]. *应用化工*, 2015, 44(1): 30-34.