

透明质酸功能化 MCM-41 型介孔二氧化硅包载紫杉醇纳米粒对体外 SMMC-7721 肝癌细胞作用研究

马哲¹, 吴超^{1*}, 陈健² (1. 锦州医科大学, 辽宁 锦州 121001; 2. 中国人民解放军第二〇五医院, 辽宁 锦州 121001)

摘要:目的 构建透明质酸(hyaluronan hyaluronic acid, HA)功能化 MCM-41 型介孔二氧化硅纳米粒(MCM-41)包载紫杉醇(paclitaxel, PTX)的靶向药物递送系统(HA-MCM-41-PTX)。考察其理化性质、体外释药行为及体外肿瘤抑制效果。方法 通过透射电镜考察 MCM-41 的形态结构及粒径, 粉末 X 射线衍射法和傅里叶红外光谱法对载药体系进行表征, 体外溶出实验考察载药体系的体外释放行为, 体外细胞实验探究载药体系对 SMMC-7721 细胞的作用机制。结果 HA-MCM-41-PTX 载药量为 26.75%。体外释药呈缓释, 48 h 药物累积释放量为(86.19 ± 5.11)%。细胞实验表明, 载药体系具有靶向作用, 易被细胞摄入并表现出良好的肿瘤细胞抑制作用。结论 HA-MCM-41-PTX 是同时具有缓释性和靶向性的载药体系。

关键词:透明质酸; 介孔二氧化硅; SMMC-7721 肝癌细胞; 紫杉醇; 肿瘤

doi:10.11669/cpj.2019.02.006 中图分类号:R944;R965 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)02-0110-07

The Research of Hyaluronic Acid Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles MCM-41 Loading Paclitaxel for SMMC-7721 Liver Cancer Cells

MA Zhe¹, WU Chao^{1*}, CHEN Jian² (1. Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, China; 2. The 205 Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Jinzhou 121001, China)

ABSTRACT; OBJECTIVE To establish a drug delivery system based on hyaluronic acid functionalized mesoporous silica nanoparticles MCM-41 loaded with paclitaxel (HA-MCM-41-PTX). The physical and chemical properties, *in vitro* drug release and the antitumor effect were investigated. **METHODS** The morphological structure and particle size of MCM-41 were observed by TEM. The drug delivery system was characterized by PXRD and FTIR. The *in vitro* release experiments was carried out to investigate the dissolution rate of HA-MCM-41-PTX. The *in vitro* cells experiment was carried out to explore the mechanism of HA-MCM-41-PTX on cells. **RESULTS** The drug loading capacity of HA-MCM-41-PTX was 28.75%. The *in vitro* drug release experiments showed that HA-MCM-41-PTX exhibited controlled release with a cumulative release of (86.19 ± 5.11)% until 48 h. *In vitro* cell experiments showed that HA-MCM-41-PTX had excellent targeting effect due to the modification of hyaluronic acid, which was easier to be uptaken by cells and exhibited great antitumor effect. **CONCLUSION** HA-MCM-41-PTX is an excellent drug delivery system with both controlled release and targeting antitumor effect.

KEY WORDS: hyaluronic acid; mesoporous silica; SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cell; paclitaxel; tumor

恶性肿瘤现已成为严重威胁人类生命的头号杀手^[1]。化疗是治疗恶性肿瘤的主要手段^[2]。紫杉醇属于广谱抗肿瘤药物, 然而其水溶性差, 限制了药物吸收, 导致抗肿瘤效果不佳^[3]。同时因化疗药物缺乏选择性, 治疗过程中不可避免地产生严重的全身毒性和不良反应^[4-7]。因此提高化疗效果的关键是解决化疗药物在肿瘤部位的靶向递送及可控释放。介孔二氧化硅纳米粒因具有比表面积大、孔径可调、生物相容性好等诸多优点常用作新型药物载体, 解决难溶性药物溶解度差的难题^[8-10]。介孔二氧化硅易修饰形成功能化载体^[11-13]。研究表明, 透

明质酸(HA)可与 CD44 受体特异性结合, 表现出显著的主动靶向性特征^[7,14-17]。通过受体介导的内吞作用将载药体系摄入肿瘤细胞, 肿瘤微环境中存在透明质酸酶可迅速降解 HA 调控药物的释放^[4,7,18-19]。因此本实验设计紫杉醇-透明质酸功能化介孔二氧化硅纳米粒载药体系, 探索该体系体外抗肿瘤效果。

1 仪器与材料

AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)、KQ-250B 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器

作者简介:马哲, 男, 硕士研究生 研究方向: 纳米技术改善难溶性药物水溶性 * 通讯作者: 吴超, 男, 副教授 研究方向: 纳米技术改善难溶性药物水溶性 Tel: 18241650212 E-mail: wuchao27@126.com

有限公司)、DF-101S 恒温磁力搅拌器(郑州市亚荣仪器有限公司)、TG22-WS 台式高速离心机(上海赵迪生物科技有限公司)、JEM-1010 透射电镜(日本电子株式会社)、IRAffinity-1 红外光谱仪、TGA-50 热重分析仪、DSC-60 型差示扫描量热仪、LC-2030 高效液相色谱仪(日本岛津公司)、Ultima IV X 射线衍射仪(日本理学公司)、HBS-1096 酶标分析仪(深圳市良谊实验室仪器有限公司)、CytoFLEX 流式细胞仪[贝克曼柯尔特商贸(中国)有限公司]、ZEISS LSM 700 激光共聚焦显微镜(上海莱瑟光谱仪器分析技术有限公司)。

紫杉醇(PTX, 纯度 $\geq 98\%$, 西安天丰生物科技有限公司)、透明质酸(纯度 $\geq 98\%$, 山东福瑞达生物化工有限公司)、十六烷基三甲溴化铵(CTAB)、正硅酸乙酯(TEOS)、3-氨基丙基-三乙氧基硅烷(APTES, 天津光复精细化工有限公司)、N-羟基丁二酰亚胺(NHS)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(EDC)、十二烷基硫酸钠(SDS)、透明质酸酶(HAase)(国药集团化学试剂有限公司)、甲醇为色谱醇, 噻唑兰(MTT), Hoechst 33342, 罗丹明鬼笔环肽, 异硫氰酸荧光素(FITC), 胰酶, RPMI-1640 培养基(北京鼎国昌盛生物科技有限公司), Annexin V-FITC 凋亡试剂盒(南京建成生物工程研究所), 其余试剂为市售分析纯。

2 方法与结果

2.1 载药体系的构建

2.1.1 介孔二氧化硅纳米粒的制备及功能化^[4-6]

1.0 g CTAB 和 0.3 g 氢氧化钠溶于 480 mL 蒸馏水中, 70 °C 水浴中搅拌使溶解成透明溶液。将 5 mL TEOS 缓慢滴入混合溶液, 室温下 400 r·min⁻¹ 搅拌 4 h, 即产生白色沉淀。白色沉淀经水、醇反复清洗 3 次, 在 60 °C 干燥 24 h, 得到白色粉末。将其在 550 °C 煅烧 4 h, 去除模板, 得到介孔二氧化硅纳米粒(MCM-41)。500 mg MCM-41 置于圆底烧瓶中, 100 °C 油浴干燥 30 min, 冷却至室温, 然后加入 2 mL APTES 和 50 mL 无水乙醇, 77 °C 氮气氛围下冷凝回流 10 h, 产物经醇洗, 离心后干燥, 即得氨基化介孔二氧化硅纳米粒(NH₂-MCM-41)。200 mg HA 置于烧杯, 加入 70 mL 水, 室温下搅拌至溶解。以 0.1 mol·L⁻¹ HCl 调节 pH 值至 4.7。加入 11.51 mg NHS 和 19.17 mg EDC, 搅拌 3 h, 取 500 mg NH₂-MCM-41 混悬至上述溶液, 室温搅拌 12 h, 离心后干燥, 即得透明质酸功能化介孔二氧化硅纳米粒(HA-

MCM-41)。

2.1.2 载药 采用吸附法制备 HA-MCM-41-PTX。200 mg HA-MCM-41 混悬于 PTX 的二氯甲烷溶液中(2 mL, 100 mg·mL⁻¹), 超声分散后, 搅拌 24 h。产物通过离心、干燥, 即得透明质酸功能化介孔二氧化硅包载紫杉醇纳米粒(HA-MCM-41-PTX)。精密称量 5.0 mg HA-MCM-41-PTX 置于 10 mL 量瓶, 加甲醇溶解并稀释至刻度。静置 1 h, 离心, 取上清液为供试品, HPLC 测定 PTX 浓度并计算载药量。同法制备 MCM-41-PTX 并计算载药量作为比较。

2.2 载体与载药体系理化表征

2.2.1 透射电镜(TEM) JEM-1010 透射电镜观察 MCM-41 形态及介孔结构, 检测电压为 200 kV。

2.2.2 傅里叶红外分光光谱法(FTIR) 红外光谱仪分别测定 HA、NH₂-MCM-41、HA-MCM-41、MCM-41。以溴化钾为空白, 扫描波数在 400 ~ 4 000 cm⁻¹。

2.2.3 热重分析法(TGA) TGA-50 热重分析仪在升温速度为 10 °C·min⁻¹、氮气气氛下分别测定 MCM-41、NH₂-MCM-41、HA-MCM-41。

2.2.4 X 射线衍射分析(XRD) X 射线衍射仪分别测定 PTX、MCM-41、HA-MCM-41、MCM-41-PTX、HA-MCM-41-PTX, MCM-41 与 PTX 的物理混合物(PM), HA-MCM-41 与 PTX 的物理混合物(HAPM)。扫描角度(2 θ): 3° ~ 60°, 扫描速度: 5°·min⁻¹, 步长: 0.02°。

2.3 体外药物释放实验

2.3.1 体外释放度测定 按《中国药典》2015 年版释放度测定法第二法。首先, 在含 0.01% SDS 的 pH 7.4 的 PBS 缓冲液中考察 PTX、MCM-41-PTX 和 HA-MCM-41-PTX 的药物释放行为。然后在含有 0.01% SDS 和 100 U·mL⁻¹ 透明质酸酶(HAase)的 pH 7.4 的 PBS 缓冲液考察 HA-MCM-41-PTX 的药物释放行为作为对比。精密称量 3.2 mg PTX 和相当于 3.2 mg PTX 的 MCM-41-PTX、HA-MCM-41-PTX 粉末分散至相应释放介质。温度为 37.0 °C, 转速为 100 r·min⁻¹。投药后按预定取样时间取样 4 mL, 取样后及时补充等量空白介质。HPLC 测定各时间点的药物浓度, 实验重复 3 次, 取平均值计算药物累积释放度, 绘制药物释放曲线。

2.3.2 色谱条件 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-水(65:35); 流速为 1 mL·min⁻¹; 检测波长为 227 nm; 柱温为 30

℃;进样量为 20 μL。PTX 在 7 min 左右出峰,分离度良好。

2.4 体外细胞实验

2.4.1 细胞培养 人肝癌 SMMC-7721 细胞置于含有 10% 胎牛血清、1% 青霉素和 1% 链霉素的 RPMI-1640 培养基中,于 37 ℃、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱进行培养。每隔 2 d 更换新鲜培养基。细胞融合度达 80% 时进行传代。细胞传代采用 0.25% 的胰蛋白酶进行消化作用。

2.4.2 体外细胞毒性实验 将处于对数增长期的 SMMC-7721 细胞接种于 96 孔板中,每孔 1×10^4 个细胞。37 ℃ 孵育过夜。取适量 HA-MCM-41, MCM-41, PTX, HA-MCM-41-PTX 与 MCM-41-PTX 分散于 2% HPMC 中,分别用 RPMI-1640 培养基稀释成系列浓度梯度的载体及药物混悬液 (HA-MCM-41, MCM-41 的质量浓度为 250、125、50、20、10 μg · mL⁻¹; PTX, HA-MCM-41-PTX 与 MCM-41-PTX 的质量浓度为 500、250、125、50、20、10 ng · mL⁻¹),每孔加 100 μL 载体混悬液,各浓度设置 6 个复孔。并设置 6 孔未处理细胞作为对照组。孵育 48 h 后,每孔加 20 μL (5 mg · mL⁻¹) MTT 溶液,孵育 4 h 吸出孔内溶液,加 200 μL DM-SO,摇床上振摇 10 min,使结晶物充分溶解,酶联免疫检测仪 OD 490 nm 处测量各孔的吸光值,计算各浓度下的细胞活率值。

2.4.3 激光共聚焦细胞摄取实验 采用 FITC 对修饰 HA 前后的 MCM-41 进行标记。具体方法:1 mg FITC 染料加 1 mL 的无水乙醇溶解于西林瓶中,加入 100 mg NH₂-MCM-41,在室温下避光搅拌 4 h,离心,真空干燥即得含有 FITC 标记的 MCM-41 (FITC-MCM-41)。同法制备得 FITC-HA-MCM-41。将处于对数增长期的 SMMC-7721 肝癌细胞接种于共聚焦皿上,细胞密度 5×10^4 个。将 FITC-MCM-41 与 FITC-HA-MCM-41 配置成 20 μg · mL⁻¹ 的混悬液加入共聚焦皿,分别培养 0.5、1、2 h 后,吸出培养液,PBS 洗 3 次,4% 多聚甲醛溶液固定 10 min。然后 PBS 洗 3 次,在 4 ℃ 下,用 0.1% 的 Triton X-100 孵育 10 min。在 37 ℃ 下 1% 白蛋白封闭液封闭 30 min 后染色。1 μg · mL⁻¹ Hoechst 33342 对细胞核进行染色 20 min,1 μg · mL⁻¹ 罗丹明鬼笔环肽对细胞骨架染色 30 min。染色结束 PBS 洗 3 次,荧光共聚焦显微镜下观察载药体系的细胞摄取过程。

2.4.4 细胞凋亡实验 将 SMMC-7721 肝癌细胞接种于六孔板内,培养 24 h,配制相当于 20 ng · mL⁻¹

PTX 的 PTX、HA-MCM-41-PTX 与 MCM-41-PTX 溶液,分别加入六孔板中。培养 48 h, SMMC-7721 细胞用胰酶消化收集置于流式管,用 500 μL 结合液混悬细胞,分别加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI 混匀,避光孵育 10 min。流式细胞检测仪分析细胞早期凋亡及晚期凋亡状态所占比例。

3 结果与讨论

3.1 载药体系的制备与表征

3.1.1 TEM 制备的 MCM-41 形态圆整,呈单分散状态,粒径分布较为均匀约为 150 nm,清晰可见其介孔结构(图 1)。介孔结构为药物提供较高比表面积的药物贮库,同时纳米空间限制效应能够有效控制药物粒径,从而改善其溶出速率。

3.1.2 FTIR 透明质酸功能化 MCM-41 型介孔二氧化硅制备过程的示意图见图 2A。MCM-41 在 900 cm⁻¹ 处有明显的硅羟基特征峰,表明介孔二氧化硅纳米粒表面富含硅羟基(图 2B)。采用 APTES 硅烷化修饰后得到 NH₂-MCM-41 在 1 560 cm⁻¹ 处出现明显的氨基特征峰,表明-NH₂ 成功地接枝在 MCM-41 的表面。经 HA 修饰后的 HA-MCM-41 在 1 650 cm⁻¹ 处出现明显的酰胺键特征峰。是 NH₂-MCM-41 的氨基与 HA 的羧基形成酰胺键,表明 HA-MCM-41 已成功制备。

3.1.3 TGA MCM-41 的热失重曲线上出现约 5% 的失重,这是由于 MCM-41 孔道吸附的水分子造成的(图 2C)。NH₂-MCM-41 的失重约为 13%,扣除水分失重 5%,表明 NH₂-MCM-41 的接枝率约为 8%。HA-MCM-41 的失重约为 25%,扣除水分失重 10% 和氨基的接枝率 8%,表明 HA-MCM-41 的接枝率约为 7%。

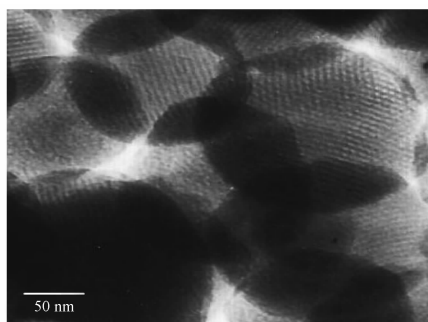


图 1 MCM-41 型介孔二氧化硅纳米粒透射电镜图 ($\times 50\ 000$)

Fig. TEM Image of mesoporous silica nanoparticles MCM-41 ($\times 50\ 000$)

3.1.4 XRD PTX、PM 与 HAPM 在 $2\theta=8.8^\circ$ 可见 PTX 的衍射峰, 而 MCM-41、HA-MCM-41、MCM-41-PTX 和 HA-MCM-41-PTX 未见明显衍射峰(图 3), 表明通过 MCM-41 和 HA-MCM-41 包载 PTX, 纳米级空间抑制 PTX 的结晶度, 使 PTX 以无定型状态载于介孔结构中。无定型的药物无晶格能的束缚, 因此载药体系中 PTX 溶解度和溶出速率得到显著改善。

3.2 载药与体外释放度

经 HPLC 测定 MCM-41-PTX 载药量为 $(32.26 \pm 1.52)\%$, HA-MCM-41-PTX 的载药量为 $(28.43 \pm 2.11)\%$ 。导致修饰后载药量减少的原因是由于 HA 亲水性大分子的结构修饰 MCM-41 表面堵塞部分介孔, 致使 MCM-41 比表面积降低。

在不含透明质酸酶的释放介质中, PTX 在 1 h 时药物累积释放量为 $(8.48 \pm 4.55)\%$, 48 h 累积释放量仍低于 30%; MCM-41-PTX 中 PTX 释放较快, 1 h 累积释放量为 $(74.12 \pm 2.66)\%$, 48 h 累积释放量为 $(89.14 \pm 4.21)\%$, 表明 PTX 通过 MCM-41 包载后溶出速率得到显著提高(图 4)。由于肿瘤细胞内 HAase 呈高水平表达, 对比考察 HA-MCM-41-PTX 在释放介质中是否添加 HAase 情况下药物的释药行为。结果表明, 在 HAase 不存在的情况下, 载药体系 1 h 累积释放量为 $(23.02 \pm 2.58)\%$, 48 h 药物累积释放量为 $(80.99 \pm 1.87)\%$ 。表明 HA-MCM-41-PTX 接触释放介质后, 亲水性高分子化合物透明质酸在载体表面吸水膨胀, 增加药物扩散阻力, 延缓药物释放。在 HAase 存在的情况下, HA-MCM-41-PTX

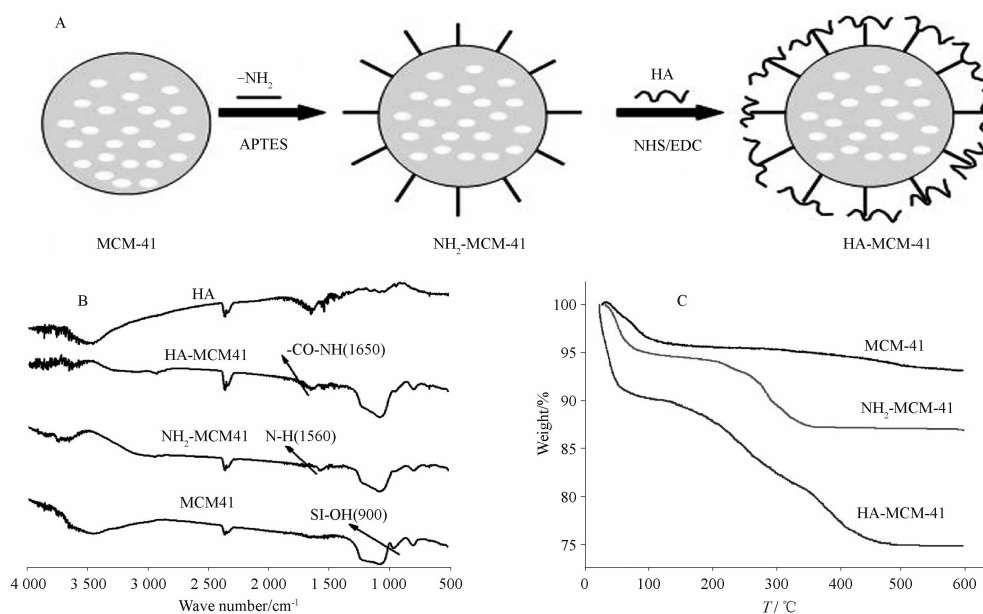


图 2 HA-MCM-41 的制备过程示意图(A), 红外光谱图(B)和热失重曲线图(C)

Fig. 2 Schematic illustration of the synthesis route(A), FTIR spectra(B) and TGA(C) of HA-MCM-41

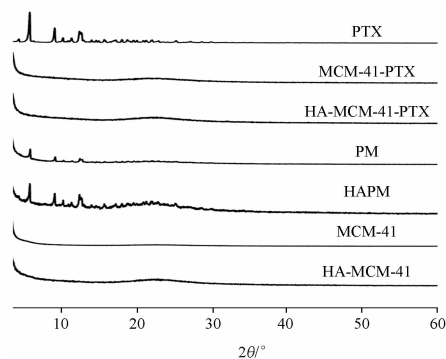


图 3 PTX, 载体和载药体系的 X 射线衍射图

Fig. 3 XRD Patterns of PTX, carrier and drug delivery system

中药物释放速率显著增加且呈缓释。1 h 药物累积释放量为 $(40.38 \pm 3.67)\%$, 48 h 累积释放量达 MCM-41-PTX 同等趋势。结果表明, 一旦 HA-MCM-41-PTX 进入机体, 在 HAase 不存在的情况下, 载药体系中的 HA 可避免 PTX 过早及过量释放; 当 HA-MCM-41-PTX 进入肿瘤细胞, 肿瘤细胞内 HAase 降解 HA 使载药体系在的 PTX 快速释放, 提高药物的生物利用度。

3.3 体外细胞毒性实验

MCM-41 与 HA-MCM-41 对 SMMC-7721 细胞基本无毒性, 细胞活率高达 90%, 证明载体具有良好的

安全性(图 5A)。不同浓度的 PTX 和载药体系对 SMMC-7721 细胞的毒性的影响见图 5B。当 PTX 质量浓度为 $50 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, HA-MCM-41-PTX 细胞活率为 $(55.10 \pm 2.63)\%$, MCM-41-PTX 为 $(69.23 \pm 2.05)\%$, 而 PTX 的细胞活率为 $(78.77 \pm 4.29)\%$ 。经 SPSS 计算得, HA-MCM-41-PTX 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $(133.32 \pm 9.75) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, MCM-41-PTX 的 IC_{50} 值为 $(199.69 \pm 11.16) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, PTX 的 IC_{50} 值为 $(1222 \pm 47.12) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。上述数据表明, 载药体系对 SMMC-7721 细胞的毒性均高于 PTX, 且 HA-MCM-41-PTX 较 MCM-41-PTX 对 SMMC-7721 细胞增殖的抑制效果更为显著。这是由于在相同药物浓度的情况下, 肿瘤细胞摄取 HA-MCM-41-PTX 较 MCM-41-PTX 的量更多, 导致肿瘤细胞内药物浓度进一步提高。故 HA-MCM-41-PTX 对肿瘤细胞增殖的抑制效果优于 MCM-41-PTX。

3.4 体外细胞摄取实验

通过 Hoechst 33342 染色的细胞核呈蓝色, FITC-HA-MCM-41 和 FITC-MCM-41 呈绿色, 罗丹明鬼笔环肽染色细胞骨架呈红色, 摄取进入细胞内的 FITC-HA-MCM-41 和 FITC-MCM-41 呈现黄色荧光, 是由红色荧光与绿色荧光叠加而产生(图 6)。图 6 中清晰可见 0.5 h 细胞内有少数黄色荧光的出现, 随着摄取时间的推移, 黄色荧光强度逐渐增强。表明细胞摄取的 FITC-MCM-41 和 FITC-HA-MCM-41 的量逐渐增多, 细胞对载体的摄取具有时间依赖性。由于 FITC-HA-MCM-41 荧光强度明显高于 FITC-MCM-41, 表明 HA 修饰后载体被肿瘤细胞的摄取效率明显提高。

3.5 细胞凋亡实验

HA-MCM-41-PTX 的早期凋亡细胞百分比为

$(17.57 \pm 3.35)\%$, MCM-41-PTX 为 $(12.63 \pm 2.67)\%$, PTX 为 $(6.54 \pm 1.92)\%$ (图 7)。HA-MCM-41-PTX 对肿瘤细胞的增殖抑制作用最为显著, 进一步说明 HA-MCM-41-PTX 特异性结合 SMMC-7721 细胞表面的 CD44 受体, 靶向进入肿瘤细胞, 改善肿瘤细胞对药物的吸收, 促进肿瘤细胞凋亡。

4 结论

本实验成功设计透明质酸修饰介孔二氧化硅包载紫杉醇纳米粒功能化载药体系, 透明质酸作为介孔二氧化硅功能化材料具有良好的生物相容性, 同时调控载药体系的释药速率, 实现透明质酸酶触发性和可控性释放。载药体系是通过透明质酸与肿瘤细胞表面的 CD44 受体介导的内吞作用实现主动靶向摄取, 并证实对 SMMC-7721 肝癌细胞表现出特异性杀伤作用和显著的凋亡效果。研究结果为提高疏水性化疗药物的治疗效果提供新的思路。

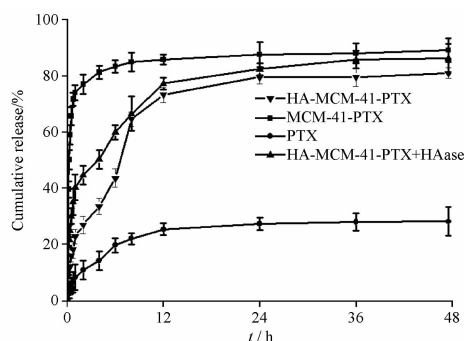


图 4 PTX, MCM-41-PTX 和 HA-MCM-41-PTX 的体外药物释放曲线。 $n=3, \bar{x} \pm s$

Fig. 4 *In vitro* drug release curves of PTX, MCM-41-PTX and HA-MCM-41-PTX. $n=3, \bar{x} \pm s$

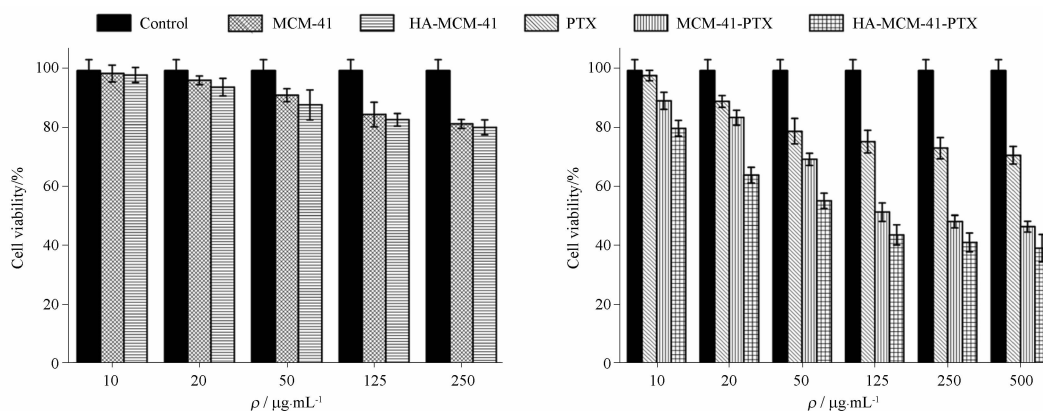


图 5 PTX, 载体和载药体系对 SMMC-7721 的细胞存活率。 $n=6, \bar{x} \pm s$

Fig. 5 The cell viability of PTX, carrier and drug delivery system for SMMC-7721. $n=6, \bar{x} \pm s$

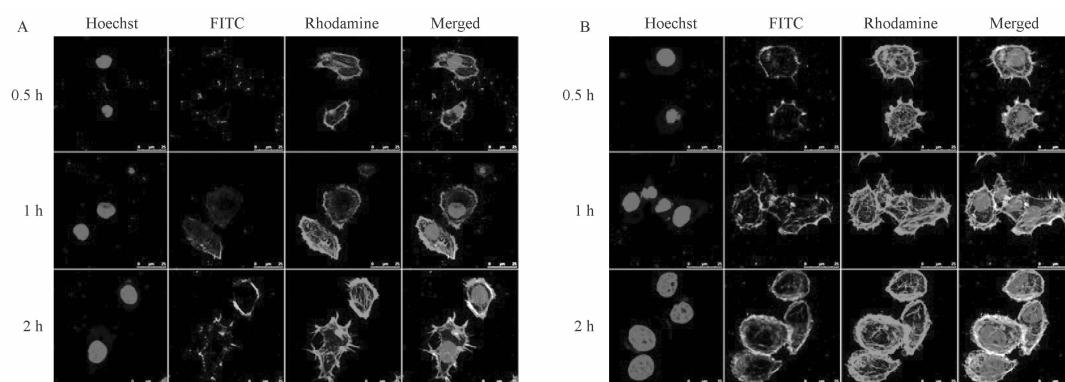


图6 SMMC-7721 细胞摄取的激光共聚焦图像

A - MCM-41; B - HA-MCM-41

Fig. 6 CLSM Images of SMMC-7721 cells after incubated 0.5, 1 and 2 h at 37 °C

A - MCM-41; B - HA-MCM-41

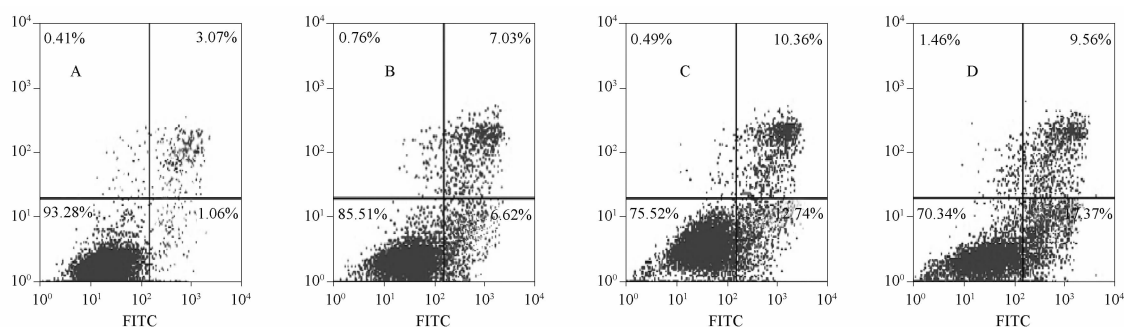


图7 PTX 和载药体系的流式细胞凋亡图

A - 空白对照; B - PTX; C - MCM-41-PTX; D - HA-MCM-41-PTX

Fig. 7 The flow cytometry plots of PTX and drug delivery system

A - blank; B - PTX; C - MCM-41-PTX; D - HA-MCM-41-PTX

REFERENCES

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, AHMEDIN J. Cancer statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1):7-30.
- [2] BEGLEY C G, ELLIS L M. Drug development: raise standards for preclinical cancer research [J]. *Nature*, 2012, 483(7391):531-533.
- [3] YANG X Y, SHI X Q, JI J B, *et al.* Development of redox-responsive theranostic nanoparticles for near-infrared fluorescence imaging-guided photodynamic/chemotherapy of tumor [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1):780-796.
- [4] ZHAO Q F, LIU J, ZHU W Q, *et al.* Dual-stimuli responsive hyaluronic acid-conjugated mesoporous silica for targeted delivery to CD44-overexpressing cancer cells [J]. *Acta Biomater*, 2015, 23:147-156.
- [5] LU Y, LI Y, WU W. Injected nanocrystals for targeted drug delivery [J]. *Acta Pharm Sin B(药学报英文)*, 2016, 6(2):106-113.
- [6] NAIRI V, MAGNOLIA S, PILUDU M, *et al.* Mesoporous silica nanoparticles functionalized with hyaluronic acid. Effect of the biopolymer chain length on cell internalization [J]. *Colloids Surfaces B:Biointerfaces*, 2018, 168(1):50-59.
- [7] CHEN C, SUN W, WANG X L, *et al.* pH-responsive nanoreservoirs based on hyaluronic acid end-capped mesoporous silica nanoparticles for targeted drug deliver [J]. *Int J Biolo Macromol*, 2018, 111(5):1106-1115.
- [8] MOHAOTRA S, ROUT S R, NARAYAN R, *et al.* Multifunctional mesoporous hollow silica nanocapsules for targeted co-delivery of cisplatin-pemetrexed and MR imaging [J]. *Dalton Trans*, 2014, 43(42):15841-15850.
- [9] BI Y P, WU C N, XIN M, *et al.* Facile large-scale preparation of mesoporous silica microspheres with the assistance of sucrose and their drug loading and releasing properties [J]. *Int J Pharm*, 2016, 500(1-2):77-84.
- [10] QU X Y, ZOU Y, HE C Y, *et al.* Improved intestinal absorption of paclitaxel by mixed micelles self-assembled from vitamin E succinate-based amphiphilic polymers and their transcellular transport mechanism and intracellular trafficking routes [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1):210-225.
- [11] XU X Y, WU C, BAI A D, *et al.* Folate functionalized mesoporous silica nanoparticles as a liver tumor-targeted drug delivery system for improving the antitumor effect of paclitaxel [J]. *J Nanomater*, 2017:1-13.
- [12] WAN L, WANG X F, ZHU W Q, *et al.* Folate-polyethyleneimine functionalized mesoporous carbon nanoparticles for enhancing oral bioavailability of paclitaxel [J]. *Int J Pharm*, 2015, 484(1-2):207-217.

- [13] LI J, MIAO X Q, CHEN T K, *et al.* Preparation and characterization of pelletized solid dispersion of resveratrol with mesoporous silica microparticles to improve dissolution by fluid-bed coating techniques [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2016, 11 (4): 528-535.
- [14] ZHANG J, SUN Y J, TIAN B C, *et al.* Multifunctional mesoporous silica nanoparticles modified with tumor-shedable hyaluronic acid as carriers for doxorubicin [J]. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, 2016, 144 (4): 293-302.
- [15] GHOSH S C, NESLIHAN A S, KLOSTERGAARD J. CD44: a validated target for improved delivery of cancer therapeutics [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16 (7): 635-650.
- [16] HUANG G L, HUANG H L. Application of hyaluronic acid as carriers in drug delivery [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25 (1): 766-772.
- [17] LV Y Q, XU C R, LIN C S, *et al.* Nanoplatform assembled from a CD44-targeted prodrug and smart liposomes for dual targeting of tumor microenvironment and cancer cells [J]. *ACS Nano*, 2018, 12 (2): 1519-1536.
- [18] JIANG H P, SHI X Y, YU X Y, *et al.* Hyaluronidase enzyme-responsive targeted nanoparticle for effective delivery of 5-fluorouracil in colon cancer [J]. *Pharm Res*, 2018, 35 (4): 73.
- [19] ZHANG M Z, XU C L, WEN L Q, *et al.* A hyaluronidase responsive nanoparticle-based drug delivery system for targeting colon cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2016, 76 (24): 7208-7218.
- (收稿日期: 2018-08-21)

关于推荐2019年中国药学会-以岭生物医药创新基金项目通知

中国药学会-以岭生物医药创新基金项目是中国药学会与石家庄以岭药业股份有限公司(简称:以岭药业),从2017年起共同设立的创新药物研究基金项目,旨在推进扶持研制具有自主知识产权和市场竞争力化学药物、现代中药和生物技术药物,促进创新药物研究和发展,赶超世界先进水平,推进我国药学事业科学发展。2019年中国药学会-以岭生物医药创新基金项目面向全国征集申请,经评审通过的中标项目将给予项目资金支持。现将推评工作有关事宜通知如下。

1 项目主要内容和遴选方式 主要内容:针对严重危害公众健康的重大疾病,筛选具有新结构、新物质、新配方、新制剂靶向、长效、缓控释或新用途等特征的化学药、中药、生物技术药的研发项目。重点支持通过新靶点或多靶点、分子靶向或信号网络机制产生药效的新化学实体,具有自主知识产权的项目。每个项目资助金额50~100万元,每年支持不超过10个。项目完成后,若寻求技术合作或转让,同等条件下以岭药业具有优先受让权。遴选方式:由中国药学会筛选项目,基金项目负责人牵头组织专家进行论证,择优给予资助,以岭药业根据项目进展和资金使用情况,分年度拨付。

2 承担项目条件和要求 本基金项目申请面向全国。凡在国内从事新药研究的科研院所、高等院校、医疗机构和研发公司(工业企业介入项目不予资助)等,符合资助范围和条件研究项目,可按规定提出申请。本基金项目实行“自由申请、专家评审、择优资助”的原则。项目负责人应符合以下基本条件:具有中华人民共和国国籍;年龄不超过60岁;具有副高级以上专业技术职称,或已获得博士学位两年以上并有固定工作单位(不包括在站博士后);在承担任务期间,每年(含跨年度连续)离职或出国时间不超过6个月;用于所申请项目的研究时间不少于本人工作时间50%;为确保研究任务完成,每个项目负责人及主要研究人员只能申请一项,验收后可再次申报。项目负责人必须是实际主持和从事申请项目的研究人员;申请者要遵守科学道德、学术自律,实事求是填写项目申报书,保证项目申报书真实性,不得弄虚作假。

3 推荐途径和申报方式 申请项目推荐途径:中国药学会分支机构;专业委员会、工作委员会;各省、自治区、直辖市药学会;中国药学会团体会员;中华医学会、中华中医药学会、中国中西医结合学会;经所在单位同意,符合条件的项目负责人亦可自由申请。申请项目申报方式:申请项目直接向中国药学会报送申请材料。

4 申报材料要求 书面材料:《中国药学会-以岭生物医药创新基金项目申报书》。申请人请根据申报书内容要求填写,经所在单位同意签字盖章;申报人依据项目实施的实际需要科学合理、实事求是编制项目经费预算。申报材料电子版:申报人同时提供申报书电子版1份,可用光盘存储后与申报材料一同邮寄至我会,或通过电子邮件发送至联系人邮箱。规格及装订要求:申报书一律用A4纸打印或复印,装订成一册,一式6份。要求至少一份为原件,并在首页右上角标明“原件”,原件系指公章为原印模,签名为原笔迹。

5 申报截止日期 2019年4月30日,以邮戳为准,逾期不受理。

6 评审和签订任务书 中国药学会组建评委会,项目获得者由评委会投票并评选产生。签订项目任务书将另行通知。可从中国药学会网站(www.cpa.org.cn)查询。

7 联系人和联系方式 北京朝阳区建外大街四号建外SOHO九号楼18层(100022),联系人:孙文虹,文瑾(010-58699280-819),传真:010-58694812, E-mail: kjpbj@cpa.org.cn。

doi:10.11669/cpj.2019.02.007

[本刊讯]