

· 论著 ·

新型喜树碱纳米凝胶给药系统的构建及体外透皮特性研究

王翔¹, 张梁宇¹, 丁宝月², 陈杨¹ (1. 解放军98医院, 浙江湖州313000; 2. 嘉兴学院医学院, 浙江嘉兴314001)

[摘要] **目的** 制备新型喜树碱纳米凝胶给药系统(CPT-PPO gel), 并对其含量、理化性质和体外透皮特性进行考察。**方法** 以乙交酯-丙交酯共聚物(PLGA)包裹抗银屑病药物喜树碱(CPT)作为纳米系统的核, 将聚酰胺-胺(PAMAM, G3.0)包裹在PLGA表面作为纳米系统的壳, 采用乳化溶剂挥发法制备载喜树碱纳米系统(CPT-PLGA-PAMAM, CPT-PP), 并用油酸(OA)进行修饰, 得到经表面改性的核壳纳米给药系统(CPT-PLGA-PAMAM-OA, CPT-PPO)。采用HPLC法测定纳米乳中喜树碱的含量, 采用透射电镜和激光粒径测定仪分别考察纳米粒的形态和粒径。以羟丙甲基纤维素(HPMC)为基质, 制备CPT-PPO gel, 并采用Franz扩散池对其体外透皮特性进行考察。**结果** 制得的CPT-PPO gel平均粒径为(246.7±5.4) nm, 封装率为(78.7±6.9)%, 含量稳定, 在4℃时具有良好的稳定性。体外透皮实验表明, 纳米凝胶CPT-PPO gel, CPT-PP gel比普通凝胶CPT gel有更高的皮肤渗透量和滞留量($P<0.01$), 且CPT-PPO gel在皮肤渗透量和滞留量上均显著高于CPT-PP gel($P<0.05$)。**结论** 经过OA修饰的CPT-PPO gel可以显著提高药物的皮肤吸收量和滞留量, 有望成为应用CPT局部治疗银屑病的新剂型。

[关键词] 喜树碱; 纳米凝胶; 喜树碱纳米凝胶给药系统; 体外透皮特性

[中图分类号] R943

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)02-0148-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.013

Novel camptothecin loaded nanogel system : formulation optimization and *in vitro* transdermal permeability study

WANG Xiang¹, ZHANG Liangyu¹, DING Baoyue¹, CHEN Yang¹ (1. No. 98 Hospital of PLA, Huzhou 313000, China; 2. School of Medicine, Jiaxing College, Jiaxing 310014, China)

[Abstract] **Objective** To prepare a novel drug delivery system camptothecin loaded nanogel (CPT-PPO gel), and investigate its contents, physical and chemical properties and *in vitro* transdermal permeability. **Methods** The solvent evaporation method was utilized to prepare core-shell nano-drug delivery systems (CPT-PLGA-PAMAM, CPT-PP), in which the Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) was used to load camptothecin as the nucleus and the polyamidoamine (PAMAM) G3.0 was wrapped in the surface of PLGA as the shell. Then the oleic acid (OA) was connected to CPT-PP to obtain the surface modified drug delivery system (CPT-PLGA-PAMAM-OA, CPT-PPO). HPLC was used to determine the content of camptothecin in nanoparticles, transmission electron microscopy was applied to identify the nanoparticles morphology, and laser analyzer was used to determine the particle size. The hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) was added as the base for the preparation of the nanogel (CPT-PPO gel) at last. The Franz-diffusion cell was used to determine the permeation rate of nanogel *in vitro*. **Results** The resulting CPT-PPO gel was stable at 4℃, the average particle size was (246.7±5.4) nm and the encapsulation efficiency was up to (78.7±6.9)%. Comparing to the normal gel, (CPT gel), the cumulative penetration amount and the retention amount in the skin of the nanogels (CPT-PPO gel, CPT-PP gel) were significant higher ($P<0.01$), the retention and cumulative penetration amount of CPT-PPO gel was significant higher than that of CPT-PP gel ($P<0.05$). **Conclusion** After modified by OA, CPT-PPO gel can increase the cumulated amount and absorption in skin and can be used as a carrier of CPT in the new formulation for topical treatment of psoriasis.

[Key words] camptothecin; nano gel; CPT-PPO gel; *in vitro* transdermal permeability

[基金项目] 国家自然科学基金(81201809); 南京军区科技创新重点项目(12Z03); 全军医学科技青年培育项目(13QNP045)

[作者简介] 王翔, 硕士, 主管药师, 研究方向: 纳米靶向和缓释控释给药系统的研究. E-mail: wangg0214@foxmail.com

[通讯作者] 陈杨, 主任医师, 研究方向: 银屑病的治疗与研究. Tel: (0572)3269793; E-mail: 98cy@163.com

银屑病俗称“牛皮癣”, 是一种慢性、复发性、增殖性表皮疾患, 属皮肤顽疾。临床常使用喜树碱(CPT)及其他激素类药物的膏剂或霜剂涂于患处进行治疗。由于上述传统的外用剂型容易导致炎症、过敏等反应, 近年来, 新型给药系统特别是以纳米载体为基础的给药系统的发展, 为皮肤相关疾病的治

疗提供了更多的选择。建立在纳米系统基础上的药物载体可以较好地控制药物释放。另外,由于粒径小,可以提高给药效率,降低刺激性和毒性,同时也提高了患者的依从性^[1,2]。如固体脂质纳米粒(SLN)、纳米结构脂质体(NLC)以及脂质体,在研究和实验中都表现出了很好的皮肤渗透性。但是这些药物有限的载药量和相对稳定性的问题,导致其应用受限^[3,4]。而聚合物纳米粒子,如聚(ϵ -己内酯)^[5]、聚丙烯亚胺(PPI)^[6]、壳聚糖^[7]、聚乳酸(PLA)^[8]等则显示出了良好的局部用药潜力。这些聚合物纳米粒通过修饰以减少药物与皮肤直接接触的刺激,从而达到可控性和持续释药的优点,此外,通过促渗剂修饰的聚合物还可有效提高药物的透皮能力。乙交酯-丙交酯共聚物(PLGA)是一种生物相容性较高的聚合物材料,基于PLGA的聚合物纳米粒已被广泛用于生物医药领域,它具有生物相容性好、毒性低、易被水解等优点。通过表面修饰阳离子聚合物以及加入化学促渗剂可以增加纳米粒的稳定性和透皮效果^[9,10]。聚酰胺-胺(PAMAM)是一种人工合成的阳离子聚合物,分子高度分枝,呈单分散性,其末端氨基丰富,正电性强,并易于修饰连接生物活性物质以改变载体的高分子性质,有相关研究表明PAMAM具有良好的促进皮肤渗透的作用^[11]。通过PAMAM表面修饰PLGA不仅可以增加PLGA包裹药物的稳定性,PAMAM表面的自由氨基还可以接枝化学促渗剂,进一步打开皮肤角质层通道,提高皮肤递送效果^[12]。

纳米凝胶是聚合物通过物理或化学交联的方式形成的纳米粒径的网状结构,它的优点是可以增加皮肤的滞留时间,增加药物的有效负载。本实验使用聚合物材料PLGA包裹抗银屑病药物CPT制备纳米粒,通过PAMAM接枝化学促渗剂油酸(OA)修饰PLGA,构建喜树碱纳米给药凝胶系统(CPT/PLGA-PAMAM-OA,CPT-PPO),有效提高了药物的经皮渗透量及皮肤滞留量,为该药新剂型的研发提供了实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 BS224S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),DZF-6090 真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),F6-10 超细匀浆机(规格:145W),IKA 磁力搅拌器,UPWS-I-5T 超纯水器(杭州永洁达净化科技有限公司),FI-IR 红外光谱仪(美国瓦里安公司),TDL-60B 低速台式离心机(上海安亭科学仪器),SHZ-B 水浴恒温振荡器(上

海博讯实业有限公司医疗设备厂),ADVENCE 400 M 核磁共振仪(美国瓦里安公司),LC3000 型高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司),2010 透射电镜(日本 JEOL 公司),TK-12A 型透皮扩散实验仪(上海锴凯科技贸易有限公司),Zeta sizer ZS90 粒度分析仪(英国 Malvern 公司)。

1.2 药品和试剂 PLGA(济南岱罡生物工程有限公司,分子量:15 000),聚乙烯醇(PVA,常州市天怡工程纤维有限公司),PAMAM(G3.0,威海晨源化工新材料有限公司),CPT 标准品(中国药品生物制品检定所),CPT[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,分子量:348.36],OA(西格玛公司),羟丙甲基纤维素(HPMC,济南岱罡生物工程有限公司),美国联合碳化干型透析袋(MD34-7 截留分子量:7 000),色谱用试剂为 HPLC 级,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 喜树碱含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:甲醇-水(70:30,V/V);检测波长:254 nm;流速:1.0 ml/min;进样体积:20 μ l。CPT 对照品溶液和样品溶液的 HPLC 如图 1。

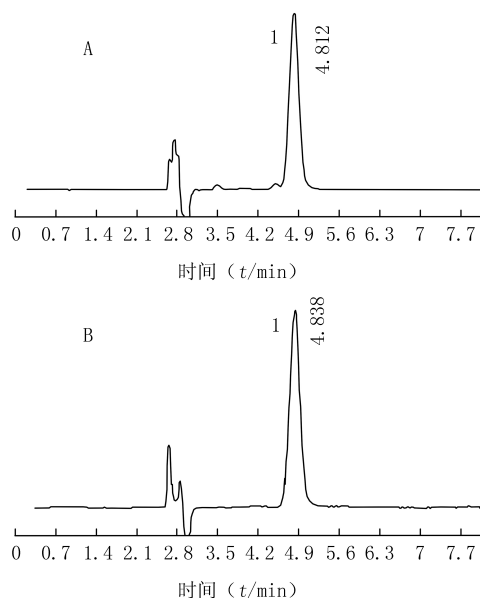


图 1 CPT 的 HPLC 图

A. 标准品; B. 对照品; 1. CPT 色谱峰

2.1.2 标准曲线的制备和方法学研究 对照品溶液的制备:精密称取 CPT 对照品 3 mg,置于 100 ml 容量瓶中,加入适量甲醇超声溶解并稀释至刻度,得

对照品储备液。分别精密量取对照品储备液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 ml 置于 10 ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,混匀,制得质量浓度为 0.3、0.6、1.2、2.4、3.6、4.8、6.0 $\mu\text{g/ml}$ 的 CPT 对照品溶液。将不同浓度的溶液分别进样 20 μl ,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。以峰面积(Y)为纵坐标、进样浓度(X)为横坐标,进行回归分析,得到 CPT 的标准曲线方程 $Y = 112\,337X + 522.61$, $R^2 = 0.9997$,结果表明 CPT 在 0.3~6.0 $\mu\text{g/ml}$ 时,峰面积与进样量呈良好线性关系。精密度、重复性、稳定性试验的 RSD 均 $< 3.0\%$,符合方法学要求。

2.2 纳米粒及其凝胶的制备

2.2.1 空白及载药纳米粒的制备

空白纳米粒的制备:用乳化溶剂挥发法制备 PLGA-PAMAM-OA (PPO) 纳米粒,取 10 mg PLGA 溶解在 1.5 ml 二氯甲烷中,以所得溶液作为有机相,将有机相加入 14.5 ml 0.1% (W/V) PVA、4 ml 0.5% PAMAM 与 1.5 ml 吐温-80 的混合溶液中,以恒定的速度搅拌使其形成粗乳液,然后用超细均浆机搅拌 15 min (35 000 r/min),使之形成纳米乳。挥干有机相,加入 100 μl 1% (W/V) 三磷酸钠 (TPP) 交联,然后在 300 r/min 下搅拌 2 h 后悬浮于磷酸盐缓冲液 (pH 值 8.0) 中,与在室温下预先用 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (EDC) 和 N -羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活化的 OA 温育 2 h,即得空白的纳米粒 PPO。未修饰的 PLGA-PAMAM (PP) 纳米粒参照上述方法制备。

未修饰的纳米粒 PP 和经 OA 修饰的纳米粒 PPO 的核磁谱图如图 2 所示。经 OA 修饰后的 PPO (图 2B) 较 PP (图 2A) 在 $\delta 3.75 \sim 3.85$ ppm 处多了 OA 特征峰。同时,在 $\delta 4.7$ ppm 的质子峰值显著增加,这是由于接上 OA 后的特征质子峰的重合与叠加。上述结果表明该 PPO 已经成功接上 OA。

载 CPT 纳米粒 (CPT-PPO) 的制备:将 CPT 溶于适量乙醇中,与含有 PLGA 的有机相充分混合,后续步骤参照空白纳米粒的制备方法制备。

2.2.2 空白及载药凝胶的制备

CPT gel 的制备:称取 CPT 0.01 g 溶于 40 ml 乙醇中,超声使其溶解,逐滴加入溶胀后的 HPMC 并不断搅拌至完全形成凝胶,室温稳定 24 h 备用,即得。

其余纳米凝胶的制备参照上述方法,将 HPMC 逐滴加入至不断搅拌的空白及载药纳米粒水溶液中,直至完全形成凝胶 (PPO gel、CPT-PPO gel、PP gel、CPT-PP gel),室温稳定 24 h,备用。

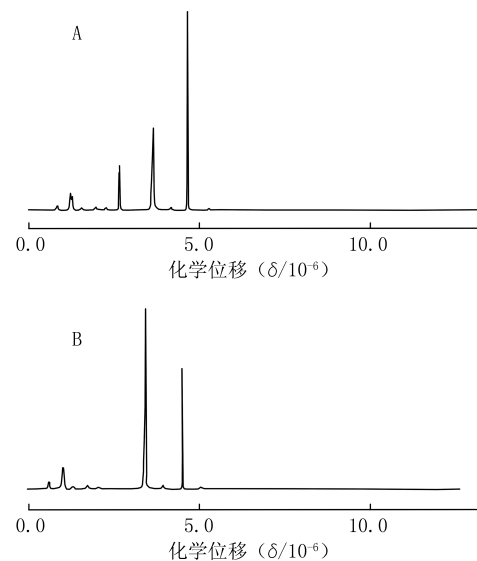


图 2 纳米粒 PP 和 PPO 的核磁图谱
A. PP; B. PPO

2.3 纳米粒及其凝胶的表征

2.3.1 CPT-PPO 的电镜形态观察

采用磷钨酸负染法,将 CPT-PPO 稀释至 0.1 mg/ml,滴于 300 目铜网表面。5 min 后,用滤纸吸去多余液体,加入 1% 磷钨酸溶液 (pH 值 7.0) 1 滴,染色 5 min。滤纸吸去多余液体,晾干后将此铜网置透射电子显微镜下观测并拍照,电镜检测结果见图 3。纳米粒大部分成规则的球形,外观圆整,大小均匀,纳米粒之间无粘连。



图 3 CPT-PPO 的透射电镜图

2.3.2 CPT-PPO 的粒径及电位

取 3 份一定量冷冻干燥后的 CPT-PPO 和 CPT-PP,分别以去离子水超声重悬分散后,用激光粒度仪测定纳米粒的光散射粒径及 Zeta 电位值。CPT-PP 的平均粒径为 (210.3 ± 6.1) nm (PDI < 0.3),电位 (18.1 ± 3.2) mV;当使用 OA 修饰后,CPT-PPO 的粒径增加至 (246.7 ± 5.4) nm,电位减少至 (9.1 ± 2.5) mV,电位的减少可能是表面修饰的 OA 屏蔽

了 PAMAM 的部分正电荷所致。

2.3.3 包封率的测定 取 3 批制备好的载药凝胶, 在 2 000 r/min 条件下用超滤管超滤 15 min, 将沉淀物用二氯甲烷溶解, 过滤, 滤液按照样品溶液处理方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 计算 3 批样品中 CPT 的含量, 代入公式计算包封率 (EE)。所制得的 CPT 纳米粒包封率为 (78.7 ± 6.9)%。

$$EE(\%) = \frac{C_{\text{纳米粒}}}{C_{\text{总药量}}} \times 100\%$$

注: $C_{\text{纳米粒}}$: HPLC 测定的 CPT 含量, $C_{\text{总药量}}$: 凝胶中 CPT 的总量

2.4 体外释放动力学研究 将一定量载药纳米凝胶 CPT-PPO 和 CPT-PP 分别放入透析袋中, 置于 pH 值 7.4 的 PBS 溶出杯中, 温度控制在 (37 ± 1) °C, 搅拌速度为 300 r/min。在不同时间 (1、2、4、6、8、12、22、24、48、72 h) 取透析液 0.5 ml, 甲醇定容, 使用 HPLC 测定 CPT 的浓度, 计算不同时间 CPT 的溶出百分率。结果如图 4 所示。纳米凝胶体外药物释放基本遵循一级动力学方程, 载药纳米凝胶是否经过 OA 修饰对载药系统本身的药物释放没有明显影响。

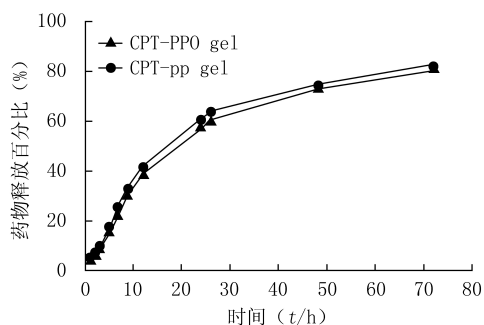


图 4 CPT-PPO 与 CPT-PP 纳米凝胶体外药物释放曲线的比较

2.5 体外经皮渗透研究 取体重合格的小鼠, 脱颈致死, 取腹部皮肤, 处理后置于 Franz 立式扩散池上, 角质层朝向供给池, 真皮层朝向接收液。供给池分别放入 CPT gel、CPT-PP gel、CPT-PPO gel, 接收池为 pH 值 = 7 的 PBS 缓冲液, 搅拌速度 300 r/min, 水浴温度 (37 ± 1) °C, 搅拌 24 h 后取样, 提取液经 0.5 μm 微孔滤膜过滤, 使用 HPLC 测定并计算单位面积累积渗透量, 结果见图 5。CPT-PPO gel、CPT-PP gel 及 CPT gel 体外经皮渗透量分别为 30.102 3、22.842 9、3.543 2 μg/cm², 结果表明, 经 OA 修饰的纳米凝胶可以显著增加 CPT 的透皮效果。

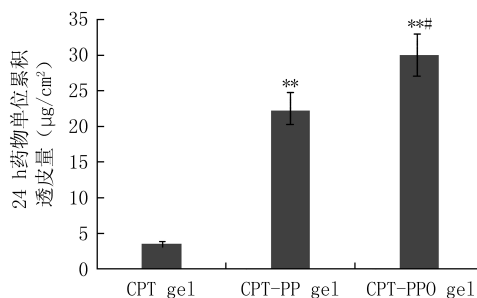


图 5 CPT、CPT-PP 和 CPT-PPO 凝胶

24 h 药物单位累积透皮量 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

** $P < 0.01$, 与 CPT gel 比较;

$P < 0.05$, 与 CPT-PP gel 比较

2.6 药物皮肤滞留量测定 将经皮渗透实验完成后的皮肤取下, 刮掉表明残留的 CPT 药物, 用 PBS (pH 值 = 7.4) 缓冲液冲洗角质层和真皮层, 滤纸吸干水分, 称重。然后剪碎皮肤, 将碎片转移至 5 ml 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 超声 30 min, 冷却至室温后, 甲醇定容, 即得提取液。取一定量上述提取液, PBS 稀释 10 倍后取 20 μl 进样, 计算皮肤的 CPT 滞留量 Q_{skin} (mg/g)。

$$Q_{\text{skin}} = \frac{C \cdot V}{m}$$

式中 Q_{skin} 为 t 时间内单位质量皮肤累积滞留量, C 为皮肤药物浓度, V 为皮肤样品溶液体积, m 为皮肤的质量。CPT 凝胶的单位质量皮肤滞留量结果见图 6。CPT-PPO gel、CPT-PP gel 及 CPT gel 体外皮肤滞留量分别为 1.821 2、1.426 8、0.214 5 mg/g, 结果表明, PLGA 经 PAMAM 修饰后, 可以显著增加 CPT 在皮肤的滞留量, 有效提高 CPT 的局部治疗效果。

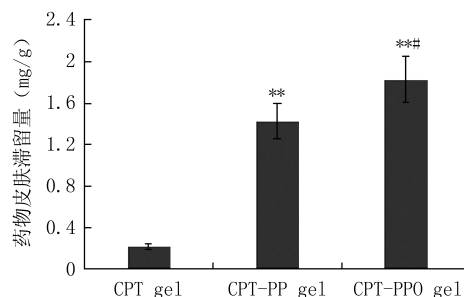


图 6 CPT、CPT-PP 和 CPT-PPO 凝胶

的皮肤滞留量 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

** $P < 0.01$, 与 CPT gel 比较;

$P < 0.05$, 与 CPT-PP gel 比较

3 讨论

3.1 制备凝胶的处方工艺考察 为了优化 CTP 纳米粒的制备工艺, 进行单因素考察, 考察因素: PVA

浓度、PLGA 浓度、PAMAM 浓度、均浆机转速、转速时间、投药量;考查指标:纳米粒粒径、电位、载药量。我们发现当上述条件固定在:PLGA 的质量为 6.67 mg/ml、0.1% (W/V) 的 PVA、0.5% (W/V) 的 PAMAM、搅拌时间为 15 min、转速为 35 000 r/min、投药量为 10 mg 时,为最佳处方工艺,制得的纳米粒粒径、电位及载药量都较为理想,工艺稳定、重现性好。

依照上述单因素考察所获得的制备纳米粒的最佳工艺处方,分别制备 3 批次载药凝胶,用激光粒度分析仪测定其粒径分布与 Zeta 电位值,并测定纳米粒的包封率及载药量。结果为粒径 253.2 nm,电位 11.5 mV,载药量 15.35 μg/mg,包封率 84.2%。

3.2 PAMAM 与 OA 修饰对透皮效果的影响 为了增加纳米载药系统的透皮能力,在 PLGA 载药系统的基础上,我们通过 PAMAM 接枝的 OA 来修饰 PLGA。为了证明 PAMAM、OA 修饰对皮肤滞留量的影响,我们合成了 CPT-PP gel,将 CPT gel、CPT-PP gel 及 CPT-PPO gel 分别作用于小鼠皮肤,进行皮肤渗透及滞留量实验,发现经过 OA 修饰的纳米凝胶与其余 2 种凝胶相比,24 h 皮肤渗透量及皮肤滞留量均有统计学差异。这可能是因为经 OA 修饰的 PLGA-PAMAM 纳米粒可以进一步打开皮肤的角质层通道,增加了活性药物到达皮肤深层(病灶组织)的概率;同时,由于增加了纳米凝胶的油/水分配系数,可使更多的药物停留在皮肤,减少药物进入体循环的量,在表皮和真皮层形成药物贮库,使药物作用于病变部位更长时间^[11]。

3.3 包裹药物的选择 CPT 是一种具有抗癌活性的天然药物,在肿瘤治疗领域有一定的潜力^[12]。但是由于其水溶性低和毒性较大,临床应用一直受到限制。为了克服上述缺点,研究者们使用纳米载药体系来包裹 CPT,以实现肿瘤的靶向或缓释给药^[13-17]。关于 CPT 局部用药的研究则少有报道。本研究制备 CPT 新型纳米凝胶并研究其在小鼠皮肤局部用药的效果,为银屑病的患处治疗提供了一条新思路,也为进一步研究打下基础。

【参考文献】

[1] Barry BW. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery [J]. Eur J Pharm Sci, 2001, 14 (2):101-114.
 [2] Prow TW, Grice JE, Lin LL, et al. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63(6): 470-491.
 [3] Gupta M, Vyas SP. Development, characterization and *in vi-*

vo assessment of effective lipidic nanoparticles for dermal delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis [J]. Chem Phys Lipids, 2012, 165(4): 454-461.
 [4] Bachhav YG, Mondon K, Kalia YN, et al. Novel micelle formulations to increase cutaneous bioavailability of azole antifungals [J]. J Control Release, 2011, 153(2): 126-132.
 [5] Vijayan V, Reddy KR, Sakhthivel S, et al. Optimization and characterization of repaglinide biodegradable polymeric nanoparticle loaded transdermal patches: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2013, 1(111): 150-155.
 [6] Agrawal U, Mehra NK, Gupta U et al. Hyperbranched dendritic nano-carriers for topical delivery of dithranol [J]. J Drug Target, 2013, 21(5): 497-506.
 [7] Chen Y, Wang M, Fang L. Biomaterials as novel penetration enhancers for transdermal and dermal drug delivery systems [J]. Drug Deliv, 2013, 20(5):199-209.
 [8] Rancan F, Papakostas D, Hadam S, et al. Investigation of polylactic acid (PLA) nanoparticles as drug delivery systems for local dermatotherapy [J]. Pharm Res, 2009, 26(8):2027-2036.
 [9] Shah PP, Desai PR, Channer D, et al. Enhanced skin permeation using polyarginine modified nanostructured lipid carriers [J]. J Controlled Release, 2012, 161(3): 735-745.
 [10] Shah PP, Desai PR, Patel AR, et al. Skin permeating nanogel for the cutaneous co-delivery of two anti-inflammatory drugs [J]. Biomaterials, 2012, 33(5):1607-1617.
 [11] Yang Y, Sunoqrot S, Stowell C, et al. Effect of size, surface charges, and hydrophobicity of poly (amidoamine) dendrimers on their skin penetration [J]. Biomacromolecules, 2012, 13 (7): 2154-2162.
 [12] O'Leary J, Muggia FM. Camptothecins: a review of their development and schedules of administration [J]. Eur J Cancer, 1998, 34(10): 1500-1508.
 [13] Min KH, Park K, Kim YS, et al. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles-encapsulated camptothecin enhance the drug stability and tumor targeting in cancer therapy [J]. J Control Release, 2008, 127(3):208-218.
 [14] Andrew J, Jennifer K, Carmen J, et al. Convection-enhanced delivery of camptothecin-loaded polymer nanoparticles for treatment of intracranial tumors [J]. Drug Deliv Transl Res, 2011, 1(1): 34-42.
 [15] Castillo PM, de la Mata M, Casula MF, et al. PEGylated versus non-PEGylated magnetic nanoparticles as camptothecin delivery system [J]. Beilstein J Nanotechnol, 2014, 5: 1312-1319.
 [16] Zhang L, Hu Y, Jiang X, et al. Camptothecin derivative-loaded poly (caprolactone-co-lactide)-b-PEG-b-poly (caprolactone-co-lactide) nanoparticles and their biodistribution in mice [J]. J Control Release, 2004, 96(1):135-148.
 [17] Botella P, Abasolo I, Fernandez Y, et al. Surface-modified silica nanoparticles for tumor-targeted delivery of camptothecin and its biological evaluation [J]. J Control Release, 2011, 156(2):246-257.