

青藤碱PLGA-TPGS纳米粒的制备及人肝癌HepG2细胞对其摄取、被其抑制的作用研究

王洪刚^{1*},高萌²,张成鸿³,徐静³,孙艺平³,徐红^{3#}(1.大连医科大学附属第一医院药剂科,辽宁大连116011;2.大连医科大学药学院,辽宁大连116044;3.大连医科大学基础医学院,辽宁大连116044)

中图分类号 R284.62;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)13-1811-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.13.24

摘要 目的:制备青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E(PLGA-TPGS)纳米粒(SPTN),研究其被人肝癌HepG2细胞摄取和其对细胞的抑制作用。方法:采用乳化-溶剂挥发法制备以香豆素-6(C6)为荧光标记物的SPTN(SCPTN)和青藤碱PLGA纳米粒(SPN)(SCPN),检测其粒径、Zeta电位和载药量;通过流式细胞仪研究加入不同抑制剂(叠氮化钠、蔗糖、细胞松弛素B、染料木黄酮、甲基- β -环糊精)和空白对照对SCPTN和SCPN被HepG2细胞摄取的影响;以5-氟尿嘧啶溶液(FS)为阳性对照药,采用水溶性四氮唑(WST-1)法测定10、20、40、80、160 $\mu\text{g/ml}$ 的SPTN、SPN、青藤碱水溶液(SS)作用于HepG2细胞24、48、72 h的生长抑制率(IR)。结果:SCPTN和SCPN的平均粒径为 (192.1 ± 2.4) 、 (389.3 ± 2.2) nm,Zeta电位为 (-21.5 ± 2.6) 、 (-13.7 ± 2.3) mV,青藤碱载药量为 $(9.3 \pm 1.7)\%$ 、 $(6.1 \pm 1.8)\%$ ($n=6$)。与空白对照比较,叠氮化钠、蔗糖作用后HepG2细胞对SCPTN和SCPN的相对摄取率均降低($P<0.01$),染料木黄酮作用后HepG2细胞对SCPTN的相对摄取率降低($P<0.05$),其余无明显变化。与SS比较,SPTN、SPN作用后HepG2细胞的IR呈浓度、时间依赖性升高,半数抑制浓度(IC_{50})降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与FS比较,仅80 $\mu\text{g/ml}$ SPTN作用72 h和160 $\mu\text{g/ml}$ SPTN作用48、72 h后HepG2细胞的IR升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),作用72 h的 IC_{50} 降低($P<0.05$)。结论:成功制得SPTN,其主要通过网格蛋白介导的内吞途径进入细胞,对HepG2细胞生长具有抑制作用。

关键词 青藤碱;乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E;纳米粒;HepG2细胞;体外;摄取;生长抑制率

Study on the Preparation of Sinomenine-loaded PLGA-TPGS Nanoparticles, Uptake by Cells and Inhibitory Effect on Human Liver Cancer HepG2 Cells

WANG Honggang¹, GAO Meng², ZHANG Chenghong³, XU Jing³, SUN Yiping³, XU Hong³(1.Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116011, China; 2.College of Pharmacy, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 3.College of Basic Medical Science, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Sinomenine (SIN)-loaded poly(lactic-co-glycolic acid)-*D*- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (PLGA-TPGS) nanoparticles (SPTN), and to study its uptake by cells and inhibitory effect on human liver cancer HepG2 cells. METHODS: Emulsification-solvent evaporation method was used to prepare SPTN with coumarin-6 (C6) as fluorescent marker (SCPTN) and sinomenine PLGA nanoparticles (SPN) with C6 as fluorescent marker (SCPN). The particle size, Zeta-potential and drug-loading amount were detected, and flow cytometry was used to study the uptake of SCPTN and SCPN by HepG2 cells after adding different inhibitors (sodium azide, sucrose, cytochalasin B, genistein, methyl- β -cyclodextrin) and blank control. Using 5-fluorouracil solution (FS) as positive control, WST-1 was used to detect inhibitory rate (IR) of HepG2 cells 24, 48 and 72 h after cultured with 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{g/ml}$ SPTN, SPN and sinomenine solutions (SS). RESULTS: Mean particle size of SCPTN and SCPN were (192.1 ± 2.4) and (389.3 ± 2.2) nm, Zeta potential (-21.5 ± 2.6) and (-13.7 ± 2.3) mV and drug-loading amount of sinomenine $(9.3 \pm 1.7)\%$ and $(6.1 \pm 1.8)\%$ ($n=6$). Compared with blank control, relative uptake rate of SCPTN and SCPN by HepG2 cells decreased after treated with sodium azide and sucrose ($P<0.01$); relative uptake rate of SCPTN by HepG2 cells decreased after treated with genistein ($P<0.05$); no other obvious change was found. Compared with SS, IR of HepG2 cells increased in concentration-dependent manner after treated with SPTN and SPN, while IC_{50} decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); compared with FS, IR of HepG2 cells increased only after treated with 80 $\mu\text{g/ml}$ SPTN for 72 h and 160 $\mu\text{g/ml}$ SPTN for 48 and 72 h ($P<0.05$ or $P<0.01$), and IC_{50} of HepG2 cells decreased after treated for 72 h ($P<0.05$). CONCLUSIONS: SPTN has been prepared successfully, and cellular uptake mechanism of it by HepG2 cells might be clathrin-mediated endocytosis. SPTN can inhibit the growth of HepG2 cells.

KEYWORDS Sinomenine; Poly(lactic-co-glycolic acid)-*D*- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate; Nanoparticles; HepG2 cells; *in vitro*; Uptake; Inhibitory rate of cell growth

* 主管药师。研究方向:药物制剂。电话:0411-83635963-7079。
E-mail:13840805901@139.com

通信作者:实验师。研究方向:药物新制剂、新技术。电话:
0411-86110323。E-mail:859133790@qq.com

青藤碱(Sinomenine, SIN)是从中药青风藤中提取的生物碱单体,临床多用其盐酸盐,具有明显的抗炎、抗免疫、镇痛等药理作用,国内已有盐酸青藤碱片、盐酸青藤碱注射液等用于临床^[1-2]。现代药理学研究发现,SIN能够抑制多种恶性肿瘤细

胞的生长^[3-4]。但由于SIN生物半衰期较短,临床治疗一般需长期口服,且用药剂量较大时可引起皮疹、胃肠道等不良反应,又由于其对光、热均不稳定,限制了其应用。

纳米粒(Nanoparticles, NPs)是一种稳定性好、毒性较小的靶向制剂,可改变药物在体内的药动学特征,增加药物在靶器官的分布,从而提高疗效、降低毒副作用。控制NPs的粒径及表面带电性,有望实现NPs对肝脏的靶向作用。

目前对微粒给药系统体内评价的一个重要方面是研究其在体内的吸收和转运情况,较常用的方法是进行荧光标记后示踪给药系统的体内转运行为。近年来香豆素-6(Coumarin-6, C6)常被作为荧光探针,用于给药系统的体内示踪、细胞摄取及转运机制研究^[5]。本试验采用乳化-溶剂挥发法^[6]制备同时包载模型药物SIN和荧光标记物C6的2种纳米粒,即SIN/C6-乳酸羟基乙酸共聚物NPs(SIN/C6-PLGA NPs, SCPN)和SIN/C6-PLGA-水溶性维生素E NPs(SIN/C6-PLGA-TPGS NPs, SCPTN),研究二者被人肝癌HepG2细胞体外摄取的机制;同时采用水溶性四氮唑(WST-1)法比较自制的2种不含C6的SIN NPs,即SIN-PLGA NPs(SPN)、SIN-PLGA-TPGS NPs(SPTN)^[7]对HepG2细胞的体外抑制作用,为制备SIN新制剂提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

1200高效液相色谱仪(美国Agilent公司);NanoZS90激光粒度仪(英国Marlvern公司);SCPTOH离心机(日本Hitachi公司,离心半径:13.5 cm);MS105DU电子天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司,精度:0.01 mg);Accuri C6流式细胞仪(美国Becton Dickinson公司);Olympus IX81荧光倒置显微镜(日本Olympus公司);354型酶标仪(美国Thermo公司)。

1.2 药品与试剂

SIN原料药(陕西森弗生物技术有限公司,批号:20130120,纯度:98%);C6原料药(美国Sigma-Aldrich公司,纯度:98.0%);TPGS(美国Eastman化学公司,批号:20130410);PLGA(山东省医疗器械研究所,批号:14030911,比例:50:50,分子质量:50 000);SPN(批号:20150309,规格:62 mg/g)、SPTN(批号:20150309,规格:95 mg/g)由大连医科大学药剂学教研室提供;5-氟尿嘧啶注射液(FS,深圳三顺制药有限公司,批号:20150220,规格:25 mg/ml);4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI,北京索莱宝科技有限公司,批号:20130110);WST-1细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(德国Roche公司,批号:M1880);高糖培养基(上海立菲生物技术有限公司);其余辅料均为药用规格,所用试剂均为分析纯,水为三蒸水。

1.3 细胞

人肝癌HepG2细胞系(中国医学科学院基础医学研究所细胞中心)。

2 方法与结果

2.1 细胞培养

将HepG2细胞放在含10%胎牛血清的高糖培养基中,在37℃、饱和湿度、5%CO₂培养箱中培养。用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤、0.25%胰酶消化液消化成单细胞悬液,取对数生长期的细胞进行试验。

2.2 NPs的制备及质量控制

2.2.1 制备工艺^[8] 精密称取SIN原料药适量,用2 ml纯化水溶解,再精密称取C6适量、PLGA-TPGS 100 mg,用8 ml乙酸乙酯溶解,200 W超声下将SIN水溶液滴加到PLGA-TPGS乙酸乙酯溶液中,形成W/O型一级乳;200 W超声下将上述乳液滴加到200 ml 0.06%TPGS水溶液中,继续超声6 min,形成W/O/W型二级乳;搅拌12 h充分挥发乙酸乙酯后,20 000 r/min(离心半径:13.5 cm,下同)离心15 min,去离子水洗3次,20 000 r/min离心15 min,将沉淀物用适量去离子水分散均匀,冷冻干燥24 h,得同时包载SIN和C6的SCPTN。不加SIN和C6,同法制得空白纳米粒(EPTN);另以PLGA为载体,同法制得同时包载SIN和C6的SCPN。

2.2.2 粒径和Zeta电位的测定 按前期试验方法^[5]分别测得SCPTN和SCPN的平均粒径分别为(192.1±2.4)、(389.3±2.2) nm(*n*=3),Zeta电位分别为(-21.5±2.6)、(-13.7±2.3) mV(*n*=3)。

2.2.3 SIN、C6载药量的测定 按前期试验方法^[7,9]测得SCPTN和SCPN中SIN载药量分别为(9.3±1.7)%、(6.1±1.8)%(*n*=6);C6载药量分别为(10.6±1.9)%、(8.4±1.6)%(*n*=6)。

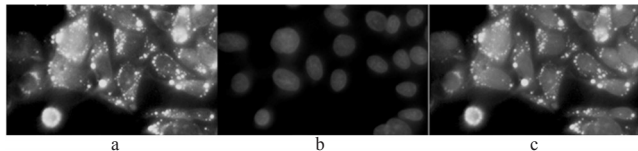
2.3 数据处理方法

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。用SPSS 17.0统计软件进行统计分析,多组资料采用方差分析,两组间比较采用*t*检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2.4 HepG2细胞的摄取试验^[9-10]

取HepG2细胞,加至24孔板,使密度为1×10⁵个/孔,培养24 h。用SCPTN、SCPN在37℃下孵育4 h,冷PBS洗3次,75%乙醇固定10 min,吸走乙醇,再用冷PBS洗3次,每次5 min;用200 ng/ml DAPI染色15 min,再用冷PBS洗3次,每次5 min,最后用荧光倒置显微镜观察,结果见图1。

SCPTN被HepG2细胞摄取的效果图:



SCPN被HepG2细胞摄取的效果图:

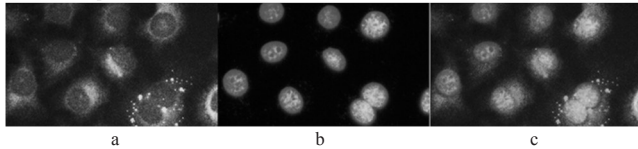


图1 HepG2细胞对SCPTN、SCPN的摄取荧光显微镜图(×400)

a. 被细胞摄取的效果图;b. 细胞核被DAPI染成蓝色荧光的效果图;c.a和b合并的效果图

Fig 1 Fluorescence microgram of the uptake of SCPTN and SCPN by HepG2 cells(×400)

a. the uptake of SCPTN by HepG2 cells; b. blue-fluorescence of nucleus stained by DAPI; c. combination of a and b

由图1可见,载C6的有绿色荧光的SCPTN和SCPN分布在被DAPI染成蓝色的HepG2细胞核周围,表明2种NPs都能被HepG2细胞摄取;但比较图1a可见,SCPTN被HepG2细胞摄取的更多(细胞核周围绿色荧光更亮、更强)。由前期试验

结果可知,主要是因为SCPTN具有比SCPN更小的粒径、更高的Zeta电位(绝对值),故在相同的时间内更易被HepG2细胞摄取^[8]。

2.5 纳米粒摄取机制的考察^[11]

将HepG2细胞调整密度为 1×10^5 个/ml,接种于6孔板,分为阴性对照组和不同抑制剂叠氮化钠组(25 mmol/L)、蔗糖组(450 mmol/L)、细胞松弛素B组(10 μ g/ml)、染料木黄酮组(200 μ mol/L)、甲基- β -环糊精组(3 nmol/L),另设不加细胞和药物的空白对照组,每组2孔。加入相应药物和培养基后,移入CO₂孵箱中,培养1 h后,将各抑制剂组的培养液吸出,并在每组2孔中分别加入SCPTN、SCPN混悬液,再次移入CO₂孵箱中,继续培养3 h。吸出各孔培养液,收集到离心管内,用PBS将各孔细胞洗1~2次,分别加500 μ l胰酶消化,待消化至细胞可吹落时,加含血清的高糖培养基1 ml终止消化并收集到离心管内,1 000 r/min离心5 min,弃上清。加1 ml冷PBS,重复3次,将细胞重悬于1 ml冷PBS中吹散并过滤,立即采用流式细胞分析仪检测相对摄取率。不同抑制剂对HepG2细胞摄取SCPTN、SCPN的影响结果见图2。

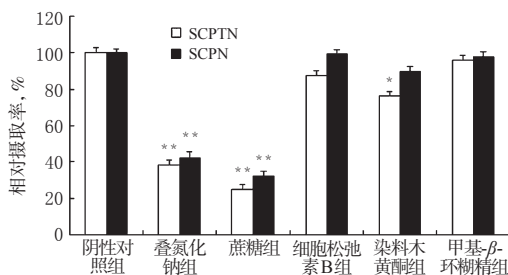


图2 不同抑制剂对HepG2细胞摄取SCPTN、SCPN的影响($n=6$)

注:与阴性对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Fig 2 Effects of different inhibitors on cellular uptake of SCPTN and SCPN by HepG2 cells($n=6$)

Note: vs. negative control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

叠氮化钠是能量抑制剂,可影响三磷酸腺苷(ATP)生成进而阻断能量依赖的内吞。由图2显示,叠氮化钠组中细胞对SCPTN和SCPN的相对摄取率分别为38.4%和42.5%,与阴性对照组比较均降低($P < 0.01$),表明叠氮化钠能明显抑制细胞对SCPTN和SCPN的摄取,其内吞是一种能量依赖的过程。蔗糖主要是网格蛋白介导内吞的抑制剂。蔗糖组中细胞对SCPTN和SCPN的相对摄取率分别为24.8%和32.1%,与阴性对照组比较均降低($P < 0.01$),表明SCPTN和SCPN都可能通过网格蛋白介导的方式进入细胞。摄取SCPTN被抑制的程度更明显,表明其更依赖于网格蛋白介导的内吞。细胞松弛素B是大胞饮和巨吞噬抑制剂,可抑制肌动蛋白聚合和细胞膜流动。细胞松弛素B组中细胞对SCPTN和SCPN的摄取几乎不受该抑制剂影响。染料木黄酮是酪氨酸激酶抑制剂,可抑制细胞质膜微囊(小窝蛋白)介导的内吞。染料木黄酮组中细胞对SCPTN和SCPN的相对摄取率分别为76.2%(与阴性对照组比较 $P < 0.05$)和89.6%,表明细胞质膜微囊(小窝蛋白)介导的内吞可能也参与了SCPTN的细胞摄取过程。甲基- β -环糊精是脂筏抑制剂,可用来研究脂质双分子层在内吞中的作用,甲基- β -环糊精组中细胞对SCPTN和SCPN的摄取几乎不受该

抑制剂影响,表明单纯水溶性纳米载体不易与细胞膜发生内吞或融合。

2.6 体外肿瘤细胞生长抑制率的测定^[12]

2.6.1 细胞分组 为消除96孔板和培养液在测定样品时对吸光度(A)的影响,先测定只加入高糖培养液50 μ l(与试验组体积相同)的空白96孔板在酶标仪450 nm波长处的 A ,作为 $A_{空白}$ ($n=6$)。试验共分为5组,每组6个复孔,FS组:接种细胞后加入500 μ g/ml的FS 50 μ l,使5-氟尿嘧啶终质量浓度分别为10、20、40、80、160 μ g/ml;SPN组:接种细胞后分别加入SPN(按给药剂量精密称取SPN适量,加三蒸水100 W超声30 s,分散均匀)50 μ l,使SIN终质量浓度分别为10、20、40、80、160 μ g/ml;SPTN组:接种细胞后分别加入SPTN(按给药剂量精密称取SPTN适量,加三蒸水100 W超声30 s,分散均匀)50 μ l,使SIN终质量浓度分别为10、20、40、80、160 μ g/ml;SIN溶液(SS)组:接种细胞后加入500 μ g/ml的SS 50 μ l,使SIN终质量浓度分别为10、20、40、80、160 μ g/ml^[9];EPTN组:接种细胞后加入EPTN混悬液(按给药剂量精密称取材料量与SPTN组相同的EPTN适量,加三蒸水100 W超声30 s,分散均匀)50 μ l,使其与SPTN组材料浓度相同;阴性对照组:接种细胞后不加药物,只加入与药物体积相同的高糖培养液50 μ l。

2.6.2 WST-1试剂盒测定生长抑制率 用含10%胎牛血清、100 u/ml青霉素、100 μ g/ml链霉素的高糖培养液将HepG2配制成单个细胞悬液,再以每孔 1×10^4 个的密度接种于96孔板上,体积均为100 μ l。按“2.6.1”项下方法分组、加药,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂及饱和湿度条件下培养24、48、72 h。每孔加入计算量的WST-1溶液10 μ l,继续孵育4 h,终止培养。在酶标仪450 nm波长处测定各孔的 A ,参比波长为600 nm。按公式 $[1 - (A_{试验} - A_{空白}) / (A_{阴性} - A_{空白})] \times 100\%$ 计算细胞生长抑制率(IR),并将每组同一培养时间的5个药物浓度分别与对应的IR进行线性回归,得到不同培养时间的IR方程。结果显示, $A_{空白}$ 为 0.026 ± 0.012 ($n=6$), $A_{阴性对照}$ 为 0.058 ± 0.014 ($n=6$),其余各组HepG2细胞的IR检测结果见表1。

由表1可见,EPTN没有明显的细胞毒性,PLGA-TPGS具有良好的生物相容性;SPTN组和SIN组具有明显的细胞毒性,且随着SIN浓度的增大,体外对HepG2细胞的抑制作用也随之增强,即其抗癌活性具有浓度和时间依赖性;72 h时SPTN组80、160 μ g/ml质量浓度的IR较FS组增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明SPTN具有良好的缓释作用以及较高的体外细胞生长抑制作用。

2.6.3 半数抑制浓度(IC₅₀)的计算 将IR=50%分别代入不同培养时间时各组的IR方程,计算其IC₅₀,结果见表2。

由表2可见,SPTN对HepG2细胞的IC₅₀随着培养时间的延长而逐渐减小,其中72 h时明显小于SS组($P < 0.01$)和FS组($P < 0.01$)。这是因为SPTN在体外释放研究中显示其具有良好的缓释性^[9],72 h时药物累积释放量最大,能更好地发挥其对肿瘤细胞的抑制作用;与SIN溶液相比,达到相同药效时可减少给药剂量,延长其作用时间,从而可减轻SIN在临床上需长期大量使用时产生的副作用。

3 讨论

不同浓度SPTN组的IR在相同时间时分别明显高于SS组

表1 各组 HepG2 细胞的 IR 检测结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 IR value of HepG2 cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	质量浓度, μg/ml	IR, %			不同孵育时间的 IR 方程
		24 h	48 h	72 h	
EPTN 组		1.8±0.5	2.1±0.7	2.7±0.8	
SS 组	10	11.2±2.7	17.6±2.3	21.5±2.1	
	20	16.7±2.4	24.1±2.5	27.3±2.6	24 h: IR=0.274 1c+11.558(r=0.962 8)
	40	23.5±2.2	25.7±2.6	31.2±2.3	48 h: IR=0.260 1c+17.117(r=0.975 0)
	80	38.6±2.1	41.5±2.8	45.4±2.2	72 h: IR=0.258 3c+21.263(r=0.979 3)
	160	52.9±2.3	57.3±2.4	61.0±2.5	
FS 组	10	33.7±2.7**	36.2±2.1**	39.8±2.6**	
	20	39.6±2.3**	43.5±2.2**	46.1±2.3**	24 h: IR=0.240 5c+33.908(r=0.985 1)
	40	45.8±2.6**	47.3±2.5**	51.2±2.8**	48 h: IR=0.246 2c+36.596(r=0.985 2)
	80	53.1±2.9**	56.9±2.4**	62.6±2.7**	72 h: IR=0.253 1c+40.108(r=0.982 9)
	160	71.9±2.3**	75.4±2.6**	79.3±2.5**	
SPN 组	10	18.9±2.4	23.1±2.3	39.5±2.6**	
	20	23.1±2.3	30.8±2.2*	46.4±2.5**	24 h: IR=0.343 2c+17.383(r=0.977 1)
	40	31.2±2.5	43.2±2.0*	57.8±2.4**	48 h: IR=0.405 9c+23.292(r=0.980 1)
	80	50.3±2.7	59.3±2.6**	69.7±2.7**	72 h: IR=0.336 4c+40.242(r=0.974 3)
	160	69.8±2.6*	85.9±2.3**	92.1±2.8**	
SPTN 组	10	23.5±2.3	30.7±2.3**	42.8±2.6**	
	20	28.9±2.5	38.1±2.2**	50.6±2.4**	24 h: IR=0.346 9c+22.992(r=0.978 6)
	40	38.8±2.1*	49.2±2.1**	61.4±2.3**	48 h: IR=0.397 6c+30.188(r=0.988 4)
	80	55.2±2.4**	63.9±2.4**	77.5±2.2**	72 h: IR=0.361 9c+43.800(r=0.969 3)
	160	76.1±2.2**	92.3±2.0***	98.9±2.1***	

注:与相同质量浓度的 SS 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与相同质量浓度的 FS 组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

Note: vs. same concentration SS group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. same concentration FS group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

表2 各组 HepG2 细胞的 IC₅₀ 检测结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab2 IC₅₀ values of HepG2 cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

培养时间, h	IC ₅₀ , μg/ml			
	SS 组	FS 组	SPN 组	SPTN 组
24	140.2±2.1	66.9±2.4**	95.0±2.9*	77.9±2.2**
48	126.4±2.5	54.4±2.7**	65.8±2.3**	49.8±2.1**
72	111.3±2.8	39.1±2.6**	29.0±2.1**	17.1±2.8***

注:与相同作用时间的 SS 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与相同作用时间的 FS 组比较, # $P<0.05$

Note: vs. same time SS group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. same time FS group, # $P<0.05$

($P<0.01$),表明 SPTN 由于其载体、粒径、表面电荷^[8]等有助于 SIN 被细胞更好地摄取、吞噬,使 SIN 能更好地发挥其对 HepG2 细胞的抑制作用;同时由于 SPTN 比 SPN 具有更好的水溶性、缓释性^[8],在 72 h 时 SPTN 对 HepG2 细胞的 IR 可达到 95% 以上。

细胞摄取途径主要有 4 种:吞噬、网格蛋白介导的内吞、细胞质膜微囊(小窝蛋白)介导的内吞、独立于网格蛋白和小窝蛋白介导的内吞(大胞饮等);并且这 4 种摄取途径均有能量依

赖性。NPs 的摄取途径影响其在细胞内的转运和分布。本试验结果表明,细胞对 SCPTN 和 SCPN 的摄取主要受网格蛋白的影响,而 SCPTN 还可能通过细胞质膜微囊(小窝蛋白)介导的内吞途径进入细胞,在某些情况下可以逃过溶酶体^[13],有利于药物在细胞内的转运,使其更好地发挥对癌细胞的抑制作用。

参考文献

- [1] 孙霞,于晓佳,邱明丰,等.青藤碱药理与临床研究进展[J].中国中西医结合外科杂志,2005,11(4):363.
- [2] 李乐,张彩玲,宋必卫.青藤碱药理研究与临床应用[J].中药新药与临床药理,2006,17(4):310.
- [3] 陈伟毅,秦春宏,银晓刚.青藤碱抗肿瘤作用研究进展[J].中国药师,2013,16(12):1902.
- [4] 史海龙,崔亚亚.青藤碱对人肝癌细胞 HepG2 增殖的抑制作用[J].中医临床研究,2012,4(19):18.
- [5] Zhang Y, Tang L, Sun L, et al. A novel paclitaxel-loaded Poly(ε-caprolactone)/Poloxamer 188 blend nanoparticle overcoming multidrug resistance for cancer treatment[J]. Acta Biomaterialia, 2010,6(6):2045.
- [6] 顾晓华,王轩,安磊,等.齐墩果酸/PLGA-TPGS 纳米粒的制备及其体外释放行为研究[J].中国药房,2012,23(29):2726.
- [7] 徐红,高萌,张成鸿,等.青藤碱聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素 E 纳米粒的质量评价[J].中国药房,2015,26(7):982.
- [8] 徐红,高萌,张成鸿,等.青藤碱聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素 E 纳米粒的制备及处方工艺优化[J].中国药房,2015,26(4):525.
- [9] 鲍旭,徐红,高萌,等.两种齐墩果酸纳米粒的体外细胞摄取研究[J].中国药房,2014,25(9):800.
- [10] Bao X, Gao M, Xu H, et al. A novel oleanolic acid-loaded PLGA-TPGS nanoparticle for liver cancer treatment[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2015,41(7):1193.
- [11] 朱巧玲.低密度脂蛋白偶联 N-琥珀酰壳聚糖纳米粒共转运 si RNA/阿霉素肿瘤靶向递药系统[D].苏州:苏州大学,2014.
- [12] 陈华,徐红,安磊,等.3 种齐墩果酸纳米粒对小鼠 HCa-F 细胞体外抑制作用比较[J].中国药房,2012,23(37):3477.
- [13] Rejman J, Oberle V, Zuhorn IS, et al. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis[J]. Biochemistry, 2004,377(1):159.

(收稿日期:2015-10-04 修回日期:2016-01-14)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——RCCSE 中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅