

叶酸与端醛基聚乙二醇双重修饰的壳聚糖-硬脂酸纳米胶束的制备^Δ

孙冰冰*,赵红玲,李莹莹,李松涛,刘喜纲,王汝兴[#](承德医学院中药研究所/河北省中药研究与开发重点实验室,河北承德 067000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)21-2926-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.21.10

摘要 目的:制备一种包载难溶性抗肿瘤药物的聚合物胶束,以提高难溶性抗肿瘤药物的抑瘤作用。方法:先用壳聚糖(CSO)、硬脂酸(SA)制成胶束(CSO-SA),再依次以端醛基聚乙二醇(mPEG)和叶酸(FA)对其进行修饰制成胶束(PEG-CSO-SA和FA-PEG-CSO-SA),采用红外光谱检测CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA的特征官能团,透射电镜观察胶束的微观形态,激光粒度测定仪测定胶束的粒径和Zeta电位。以蛇床子素(OST)为模型药,采用透析法制备载药纳米胶束(FA-PEG-CSO-SA/OST),以MTT法检测FA-PEG-CSO-SA、OST溶液和FA-PEG-CSO-SA/OST对人肝癌细胞HepG2的抑制率,并计算半数抑制浓度(IC₅₀)。结果:成功制得FA-PEG-CSO-SA。CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA均呈椭圆形,粒径分别为(96.01±5.99)、(112.93±1.06)、(216.01±4.76) nm(*n*=3),Zeta电位分别为(39.30±1.75)、(38.03±2.91)、(15.17±2.10) mV(*n*=3)。FA-PEG-CSO-SA/OST中OST的包封率为(84.47±2.07)%,载药量为(16.01±0.90)%(*n*=3),FA-PEG-CSO-SA对HepG2细胞的抑制率<20%,OST溶液和FA-PEG-CSO-SA/OST对HepG2细胞的IC₅₀分别为(62.08±5.21)、(27.49±0.50) μg/mL(*n*=3)。结论:所制FA-PEG-CSO-SA能明显提高难溶性药物OST对HepG2细胞的抑瘤作用,其有望成为一种新型的抗肿瘤药物载体。

关键词 叶酸;壳聚糖;聚合物;胶束;聚乙二醇;蛇床子素;抑瘤作用

Preparation of Chitosan-stearic Acid Nano-micelles Modified with Folic Acid and mPEG

SUN Bingbing, ZHAO Hongling, LI Yingying, LI Songtao, LIU Xigang, WANG Ruxing (Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical University/Hebei Province Key Laboratory of Research and Development for Chinese Materia Medica, Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare insoluble anti-tumor drug-loading polymer micelles, and to increase inhibitive effect of insoluble anti-tumor drug. METHODS: Chitosan (CSO) and stearic acid (SA) were used to prepare blank micelles (CSO-SA), then modified with mPEG and folic acid (FA) to prepare PEG-CSO-SA and FA-PEG-CSO-SA. Characteristic functional groups of CSO-SA, PEG-CSO-SA and FA-PEG-CSO-SA were detected by infrared spectroscopy. The morphology of micelles was observed by transmission electron microscopy. The particle size and Zeta potential of micelles were measured by laser particle size analyzer. Osthole (OST) was used as the model drug and drug-loading micelles (FA-PEG-CSO-SA/OST) were prepared by dialysis. MTT assay was used to detect the inhibitory rate of FA-PEG-CSO-SA, OST solution and FA-PEG-CSO-SA/OST to human liver cancer cell HepG2. Half inhibitory concentration (IC₅₀) was calculated. RESULTS: FA-PEG-CSO-SA was successfully prepared. CSO-SA, PEG-CSO-SA, FA-PEG-CSO-SA were oval in shape; particle sizes were (96.01±5.99), (112.93±1.06), (216.01±4.76) nm (*n*=3) and Zeta potentials were (39.30±1.75), (38.03±2.91), (15.17±2.10) mV (*n*=3), respectively. Encapsulation efficiency and drug-loading amount of OST in FA-PEG-CSO-SA were (84.47±2.07)% and (16.01±0.90)% (*n*=3), respectively. The inhibition rates of FA-PEG-CSO-SA to HepG2 cells were<20%. IC₅₀ of OST solution and FA-PEG-CSO-SA/OST to HepG2 cells were (62.08±5.21), (27.49±0.50) μg/mL (*n*=3), respectively. CONCLUSIONS: Prepared FA-PEG-CSO-SA can significantly increase inhibitive effect of insoluble drug OST to HepG2 cells, and it is expected to become a new anti-tumor drug carrier.

KEYWORDS Folic acid; Chitosan; Polymer; Micelles; Polyethylene glycol; Osthol; Inhibitive effect

^Δ 基金项目:河北省省级科技计划项目(No.H2017406022);河北省高等学校科学研究计划重点项目(No.ZD2017003);河北省高校省级重点学科建设项目(No.冀教高[2013]4号)

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型。电话:0314-2290629。E-mail:1097504297@qq.com

[#] 通信作者:副教授,博士。研究方向:药物新剂型。电话:0314-2290629。E-mail:wangru1973@sina.com

现有的抗肿瘤药物中有许多为难溶性化合物,并且随着新药发现和筛选手段的不断进步,使越来越多的具有抗肿瘤活性的化合物被发现,其中有很多目标化合物为难溶性化合物。较低的溶解度往往使得这些化合物吸收差、到达肿瘤部位药量少、生物利用度低,从而成为制约其发展的重要因素^[1]。

针对这种情况,本研究设计了一种聚合物胶束作为抗肿瘤药物的载体。这种载体以碳二亚胺为交联剂,首先使壳聚糖(CSO)上的氨基与硬脂酸(SA)上的羧基发生化学反应,得到两亲性的CSO-SA胶束,并利用端醛基化聚乙二醇(mPEG)上的端醛基与CSO上的氨基发生席夫碱反应得到PEG-CSO-SA胶束,以减少巨噬细胞对聚合物胶束的摄取,增加其在体内的循环时间,再利用此化合物上残留的氨基与叶酸(FA)末端的羧基,经碳二亚胺偶联发生化学反应,最终得到两亲性FA-PEG-CSO-SA纳米胶束,以增加所载药物对肿瘤细胞的主动靶向性。由于FA-PEG-CSO-SA具有独特的核-壳结构,其内核可通过疏水作用力包载疏水性的小分子抗肿瘤药物。蛇床子素(Osthol, OST)属于难溶性抗肿瘤药物,本研究以OST为模型药,将其包载于FA-PEG-CSO-SA中制备成FA-PEG-CSO-SA/OST纳米胶束,并比较OST溶液与FA-PEG-CSO-SA/OST对人肝癌细胞HepG2的抑瘤作用。

1 材料

1.1 仪器

LJG-22D型冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂有限公司);GT16-3型高速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司);Agilent1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);JY92-IIN型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);ZEN3690型微粒粒度与表面电位测定仪(英国马尔文公司);JA2003型电子天平(上海精科天平仪器有限公司);KQ2200DE型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);FTIR-1500型傅立叶红外光谱仪(日本岛津公司);H-100型透射电镜(日本日立公司);EASY20型超纯水仪(上海康雷分析仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

CSO(济南海得贝海洋生物工程公司,批号:180306,分子量:5 000 Da,脱乙酰度: $>85\%$);碳二亚胺(上海吉尔科技生物有限公司,批号:GLS180326-00805);SA(天津市东丽区天大化学试剂厂,批号:20000704);mPEG(上海子起科技生物有限公司,批号:WYF-XC-90-6,分子量:2 000 Da);OST原料药(西安天本生物工程有限公司,批号:TBSC20180504-5,纯度: $\geq 98\%$);三硝基苯磺酸(TNBS,合肥博美生物科技有限责任公司,批号:2508-19-2,纯度: $\geq 99\%$);FA(西格玛奥德里奇贸易有限公司,批号:WXBB4821V);茈(美国Aldrich Chem公司);无水乙醇(杭州长征化工厂,批号:20180401);碳酸氢钠(上海化学试剂厂,批号:20120909);二甲基亚砜[DMSO,萨恩化学技术(上海)有限公司,批号:FH220131];0.25%胰酶(批号:2053591)、青霉素(批号:25200-056)、链霉素(批号:15140-122)、DMEM高糖培养基(批号:81190101)和磷酸盐缓冲液(批号:8117170)均购自赛默飞世尔(苏州)仪器有限公司;胎牛血清(以色列贝尔特谢克生物工业有限公司,

批号:0010316);MTT(北京博奥拓达科技有限公司,批号:C18H16N5SBR,纯度: $>98\%$);其他试剂均为分析纯。

1.3 细胞

人肝癌细胞HepG2购自上海细胞生物研究所,由承德医学院基础医学院中心实验室细胞库培养保种。

2 方法与结果

2.1 FA-PEG-CSO-SA胶束的制备

2.1.1 CSO-SA胶束的制备 精密称取0.5 g CSO,溶于40 mL去离子水中,于80 °C保温溶解1 h。将0.45 g SA和2.88 g碳二亚胺溶于60 mL无水乙醇中,于60 °C,400 r/min电磁搅拌30 min。将SA和碳二亚胺的混合无水乙醇溶液缓慢滴加到CSO的去离子水溶液中,于400 r/min电磁搅拌6 h。反应结束后,将反应产物以再生纤维素透析袋(分子量:3 500 Da,下同)透析48 h,持续换水除去水溶性副产物。透析后的反应产物冻干,然后以乙醇洗涤3次,除去未反应的SA。最后将反应产物以去离子水溶解,冻干,即得0.39 g的CSO-SA胶束。

2.1.2 PEG-CSO-SA胶束的制备 精密称取CSO-SA 51.0 mg、mPEG 19.0 mg溶于40 mL去离子水中,探头超声(功率:400 W,工作2 s,停3 s)20次,室温下400 r/min磁力搅拌过夜,终反应液置于再生纤维素透析袋中,以去离子水透析24 h,样品冻干,即得0.18 g的PEG-CSO-SA胶束。

2.1.3 FA-PEG-CSO-SA胶束的制备 称取1.2 mg FA,以10 mL无水DMSO溶解,再加入2.1 mg碳二亚胺,充分溶解反应4 h,得到FA活性酯的DMSO溶液。称取20.0 mg PEG-CSO-SA溶于10 mL去离子水中,400 r/min磁力搅拌条件下缓慢加入FA活性酯的DMSO溶液,室温下避光反应24 h。终反应液置于再生纤维素透析袋中,以去离子水透析72 h,透析液冷冻干燥,即得20.50 mg的FA-PEG-CSO-SA胶束。FA-PEG-CSO-SA的制备路线图见图1。

2.2 红外光谱结构表征

称取CSO、SA、CSO-SA、PEG-CSO-SA以及FA-PEG-CSO-SA样品各2.0 mg,与溴化钾混匀研成粉末后压制成片,测定红外光谱图,对聚合物胶束的特征官能团进行红外光谱分析。CSO、SA、CSO-SA、PEG-CSO-SA和FA-PEG-CSO-SA的红外光谱图见图2。

由图2显示,SA中的羧基与CSO的氨基形成酰胺键后,SA中羧酸的羰基由 $1 701.22\text{ cm}^{-1}$ 移至CSO-SA中酰胺键羰基 $1 631.30\text{ cm}^{-1}$,同时CSO-SA中还出现酰胺键的特征吸收峰 $1 401.70\text{ cm}^{-1}$ 和 $1 385.50\text{ cm}^{-1}$,表明CSO的氨基与SA的羧基发生了反应。与CSO-SA红外光谱比较,在PEG-CSO-SA中, $1 466.10\text{ cm}^{-1}$ 和 $1 426.40\text{ cm}^{-1}$ 为mPEG与CSO-SA中的氨基进行了席夫碱反应而产生的席夫碱键的吸收峰,表明mPEG已经与CSO-SA发生了化学反应,得到了PEG-CSO-SA。在FA-PEG-

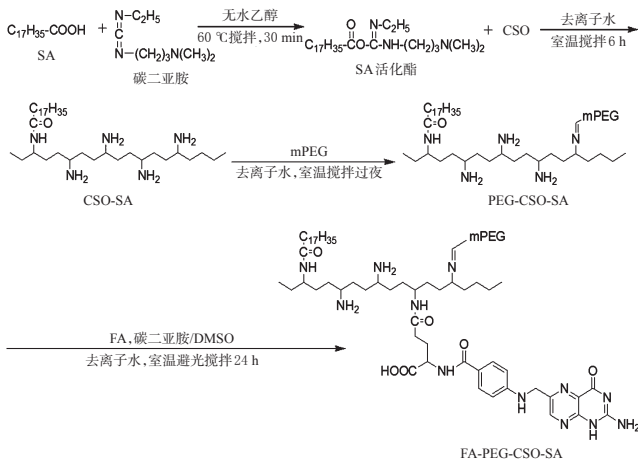


图1 FA-PEG-CSO-SA的制备路线图

Fig 1 Synthetic road picture of FA-PEG-CSO-SA

CSO-SA 红外光谱中,除 CSO-SA 的酰胺键羰基吸收峰外,又出现了 FA 中的羧基与 PEG-CSO-SA 胶束中 CSO 上残留的氨基反应所形成酰胺键的羰基吸收峰 1608.40 cm^{-1} ,表明 FA 已经成功地连接在 PEG-CSO-SA 上,并得到 FA-PEG-CSO-SA。

2.3 形态观察

分别精密称取 CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA 样品各 5.0 mg,溶于 5 mL 去离子水中,探头超声(功率:400 W,工作 2 s,停 3 s)30 次,制备成样品溶液。将样品溶液滴于覆盖有碳膜的铜网上,并以滤纸吸去多余的液体,以 2% 磷钨酸染色并干燥,以透射电镜观察样品的形态。CSO-SA、PEG-CSO-SA 和 FA-PEG-CSO-SA 的透射电镜图见图 3。

由图 3 显示,CSO-SA、PEG-CSO-SA 和 FA-PEG-CSO-SA 均呈椭圆形,且大小均匀、分散良好。

2.4 粒径与 Zeta 电位检测

取适量的 CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA 样品,以去离子水溶解,探头超声(功率:400 W,工作 2 s,停 3 s)20 次,以微粒粒度与表面电位测定仪测定各样品的粒径和 Zeta 电位。结果显示,CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA 的平均粒径分别为 (96.01 ± 5.99) 、 (112.93 ± 1.06) 、 $(216.01 \pm 4.76)\text{ nm}$ ($n=3$),Zeta 电位分别为 (39.30 ± 1.75) 、 (38.03 ± 2.91) 、 $(15.17 \pm 2.10)\text{ mV}$ ($n=3$),均符合胶束的粒径要求。CSO-SA、PEG-CSO-SA 和 FA-PEG-CSO-SA 的粒径分布图见图 4,Zeta 电位分布图见图 5。

2.5 载药胶束的制备

称取 20 mg FA-PEG-CSO-SA 胶束,加入 20 mL 去离子水,探头超声(功率:400 W,工作 2 s,停 3 s)20 次。工作停后,加入含 4 mg OST 的 DMSO 溶液,室温下 400 r/min 磁力搅拌,使药物和胶束溶液混合均匀,产物以透析袋透析 6 h,得到载药胶束 FA-PEG-CSO-SA/OST 溶液,避光低温保存备用。

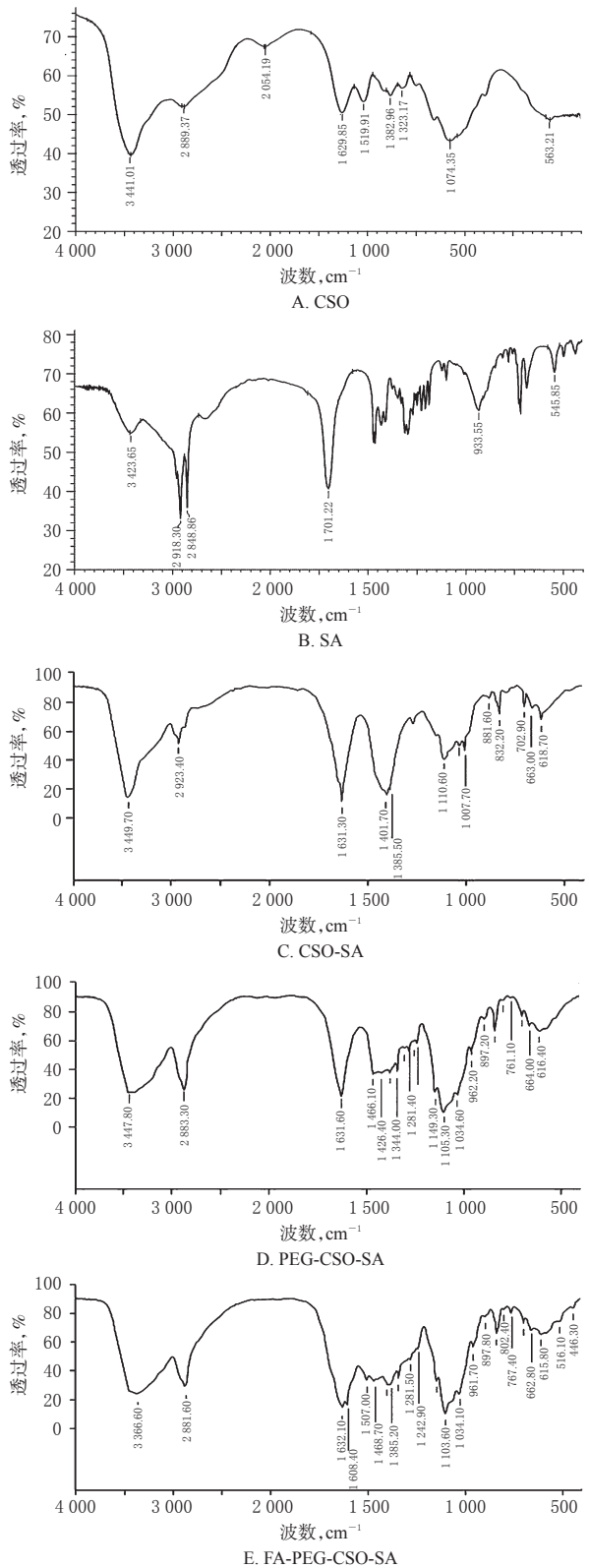


图2 CSO、SA、CSO-SA、PEG-CSO-SA 和 FA-PEG-CSO-SA 的红外光谱图

Fig 2 IR spectrum of CSO, SA, CSO-SA, PEG-CSO-SA and FA-PEG-CSO-SA

2.6 载药胶束包封率和载药量的测定

2.6.1 色谱条件 色谱柱:Agilent C_{18} (200 mm \times 4.6 mm, $5\text{ }\mu\text{m}$);流动相:甲醇-0.5%甲酸(75:25, V/V);流速:

1.0 mL/min; 检测波长: 322 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

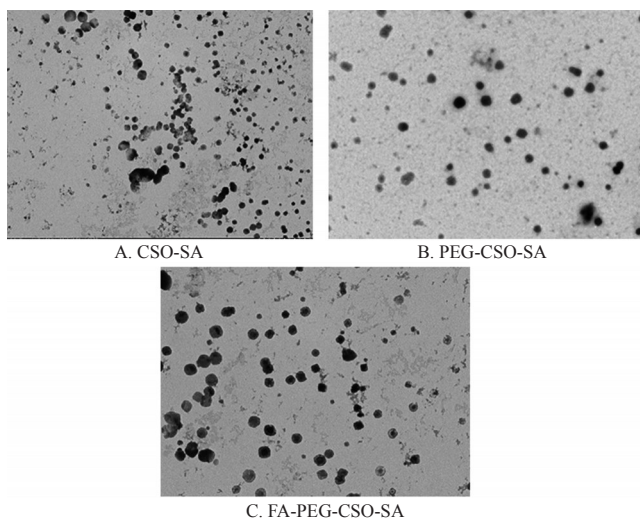


图3 CSO-SA、PEG-CSO-SA 和 FA-PEG-CSO-SA 的透射电镜图(×80 000)

Fig 3 TEM of CSO-SA, PEG-CSO-SA and FA-PEG-CSO-SA(×80 000)

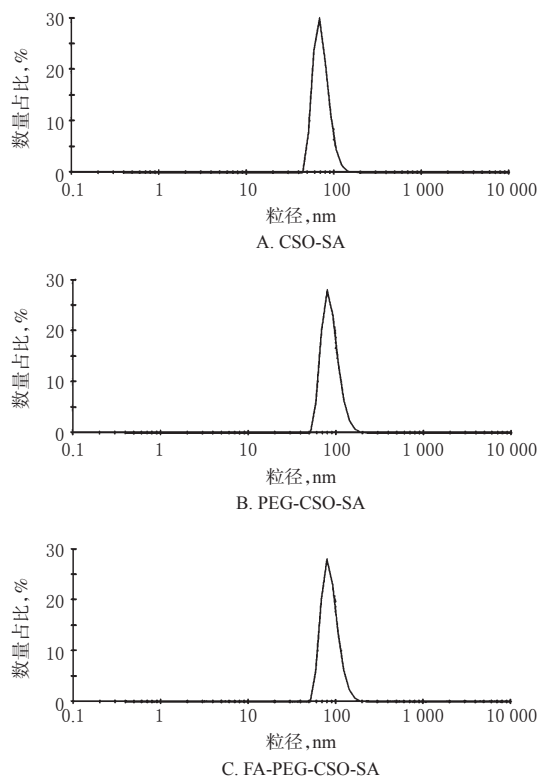


图4 CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA 的粒径分布图

Fig 4 Distribution of particle size of CSO-SA, PEG-CSO-SA and FA-PEG-CSO-SA

2.6.2 方法学考察 将 300 μg/mL 的 OST 对照品溶液, 置于 10 mL 量瓶中, 以流动相分别将其稀释成系列质量浓度的 OST 对照品溶液。按照“2.6.1”项下色谱条件进样分析, 以 OST 的峰面积为纵坐标(y)、质量浓度为横坐

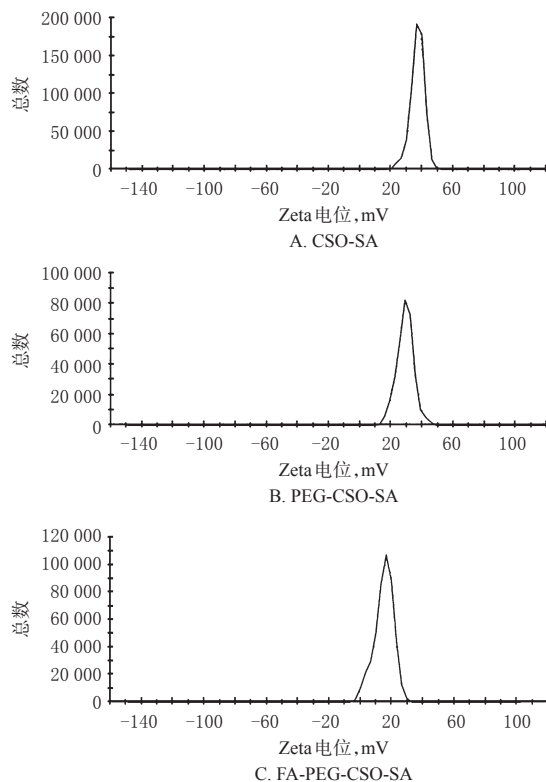


图5 CSO-SA、PEG-CSO-SA、FA-PEG-CSO-SA 的 Zeta 电位分布图

Fig 5 Zeta potential distribution of CSO-SA, PEG-CSO-SA and FA-PEG-CSO-SA

标(x), 绘制标准曲线。得标准曲线回归方程为 $y = 25.03x - 1.513$ ($r = 0.999$), OST 质量浓度在 0.78~50.00 μg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 精密性试验的日内 RSD 为 1.05% ($n = 6$), 日间 RSD 为 1.62% ($n = 3$), 准确度试验的平均回收率为 99.6%, RSD 为 0.19% ($n = 6$), 稳定性(24 h)试验的 RSD 为 1.05% ($n = 8$)。

2.6.3 测定方法与结果 称取适量 FA-PEG-CSO-SA/OST 胶束, 置于 10 mL 量瓶中, 以适量甲醇超声(功率: 400 W, 工作 2 s, 停 3 s, 200 次)溶解破乳, 再按“2.6.1”项下色谱条件进样, 测定载药胶束中 OST 的浓度, 计算封装率和载药量, 封装率 = OST 的测得量 / OST 的加入量 × 100%, 载药量 = OST 的测得量 / 载药胶束总量 × 100%。结果显示, FA-PEG-CSO-SA/OST 中 OST 的封装率为 $(84.47 \pm 2.07)\%$ ($n = 3$), 载药量为 $(16.01 \pm 0.90)\%$ ($n = 3$)。

2.7 体外抗肿瘤试验

2.7.1 细胞培养 取 HepG2 细胞, 置于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中连续孵育, 并以胰酶消化传代。

2.7.2 细胞增殖检测 采用 MTT 法检测细胞增殖。取对数生长期的 HepG2 细胞, 经胰酶消化, 制成单细胞悬液, 以 DMEM 培养基稀释, 按细胞密度为 5×10^4 mL⁻¹ 将单细胞悬液接种于 96 孔培养板中, 每孔 90 μL, 置于

37 ℃、5% CO₂培养箱中培养 24 h。待细胞完全贴壁后,分别加入不同浓度的 FA-PEG-CSO-SA 胶束溶液(质量浓度分别为 7.8、15.6、31.3、62.5、125、250、500、1 000 μg/mL)、OST 溶液和 FA-PEG-CSO-SA/OST 溶液(以 OST 计,质量浓度分别为 2.0、13.0、6.0、12.0、24.0、48.0、96.0、192.0 μg/mL),以空白细胞为对照组,每组设 3 个复孔,放入含 5% CO₂培养箱中继续培养 48 h。取出,在避光条件下每孔加入 10 μL MTT,继续培养 4 h,吸弃上清液,每孔加入 200 μL DMSO,将培养板振荡 10 min,使蓝紫色结晶物充分溶解,以酶标仪在 570 nm 波长处测定各孔光密度(OD),计算细胞抑制率=(1-OD 给药组/OD 对照组)×100%。FA-PEG-CSO-SA 对 HepG2 细胞抑制率的结果见表 1,OST 溶液和 FA-PEG-CSO-SA/OST 对 HepG2 细胞抑制率和 IC₅₀的结果见表 2。

表 1 FA-PEG-CSO-SA 对 HepG2 细胞抑制率的结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Inhibition rate of FA-PEG-CSO-SA to HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药物	浓度, μg/mL	细胞抑制率, %
FA-PEG-CSO-SA	7.8	6.80 ± 3.60
	15.6	11.41 ± 2.40
	31.3	15.92 ± 2.31
	62.5	16.90 ± 8.10
	125	17.51 ± 2.10
	250	17.81 ± 4.40
	500	17.90 ± 7.71
	1 000	17.91 ± 2.13

表 2 OST 溶液和 FA-PEG-CSO-SA/OST 对 HepG2 细胞抑制率和 IC₅₀的结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Inhibition rate and IC₅₀ of OST solution and FA-PEG-CSO-SA/OST against HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药物	质量浓度, μg/mL	细胞抑制率, %	IC ₅₀ , μg/mL		
OST 溶液	2	3.74 ± 1.03	62.08 ± 5.21		
	4	7.36 ± 2.11			
	6	10.60 ± 0.80			
	12	20.25 ± 2.86			
	24	28.51 ± 1.07			
	48	35.70 ± 7.86			
	96	52.55 ± 10.51			
	192	76.83 ± 3.52			
	FA-PEG-CSO-SA/OST	2		7.99 ± 1.63	27.49 ± 0.50
		4		18.22 ± 2.64	
6		25.71 ± 6.02			
12		33.82 ± 3.97			
24		42.22 ± 3.91			
48		55.83 ± 3.14			
96		66.45 ± 3.11			
192		89.62 ± 3.12			

由表 1 结果显示,FA-PEG-CSO-SA 胶束对 HepG2 细胞几乎没有抑制作用,各浓度的细胞抑制率均小于 20%。由表 2 结果显示,随着 OST 质量浓度的增加,OST 溶液和 FA-PEG-CSO-SA/OST 对 HepG2 细胞的抑制作

用逐渐增强;与相同浓度的 OST 比较,FA-PEG-CSO-SA/OST 对 HepG2 细胞的抑制作用更强,FA-PEG-CSO-SA/OST 的 IC₅₀ 明显低于 OST 溶液。

3 讨论

聚合物胶束由于具有独特的核-壳结构已经成为一种新型的靶向给药载体,是由两亲性的聚合物在水溶性介质中自发形成的^[2-3]。胶束中的核可为难溶性药物、蛋白质和多肽类药物提供储库,而亲水性外膜则可进行各种理化性质修饰,使其在体内达到靶向分布、逃避巨噬细胞的吞噬并提高生物膜转运的作用^[4-5]。聚合物胶束可改善表面活性剂胶束的稳定性以及克服其临界胶束浓度高的缺点,减少药物渗漏,以保证药物能够运送到体内的靶部位。此外,胶束还可在其表面嫁接各种配体,在肿瘤部位特异性地释放药物以实现抗肿瘤药物的主动靶向作用^[6-7]。聚合物胶束还具有改变抗肿瘤药物的细胞摄取途径、亚细胞定位及克服肿瘤多药耐药等諸多优点^[8-9],使其成为难溶性药物理想的输送系统。本研究选择 FA 修饰聚合物胶束,是由于 FA 对 FA 受体具有高度的亲和性,利用 FA 受体在肿瘤(如卵巢癌、乳腺癌、肝癌等)部位的过度表达而在正常组织低水平表达的特性实现抗肿瘤药物的靶向输送^[10]。PEG 可以改善载药微粒在体内的停留时间以及稳定性^[11]。连接 PEG 的聚合物既可以降低被免疫系统识别以及被蛋白酶降解的可能性,又可以降低网状内皮组织的清除率,同时 PEG 化可以增加聚合物的粒径,从而降低药物被肾过滤的可能性以及改变药物在体内的分布^[12]。

蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 的干燥成熟果实,为我国传统中药材,其中 OST 为其主要有效成分。现代药理学研究表明,OST 具有抗炎、增强免疫、镇静、抗肿瘤、抗骨质疏松、心血管保护以及保护肝脏等多种生物学活性^[13-15],药理作用广泛,具有良好的研究和开发前景。OST 不溶于水和冷石油醚,溶于碱水、丙酮、甲醇、乙醇、氯仿、乙醚、乙酸乙酯,可溶于沸腾的石油醚^[13]。本研究中之所以选择 OST 为模型药,不仅是因为其属于难溶性药物,同时也由于其价格便宜,且为具有抗肿瘤作用的中药有效成分。

本研究成功制备了 FA-PEG-CSO-SA,以 OST 为模型药考察发现,FA-PEG-CSO-SA 对 OST 的载药能力较好,可提高 OST 对 HepG2 细胞的抑瘤作用。而在接下来的研究中,本课题组将对 FA-PEG-CSO-SA 的主动靶向性及体内药动学进行研究,考察其在体内组织分布和吸收情况,以验证该载药系统的主动靶向性。

参考文献

- [1] EI MAGHRABY GM, WILLIAMS AC, BARRY BW. Skin delivery of estradiol from lipid vesicles: importance of liposome structure[J]. *Int J Pharmaceut*, 2000, 204(1/2):

苯扎贝特和非诺贝特对肺腺癌PC-9细胞增殖和c-myc表达的影响^Δ

王桂平^{1*}, 梁杰聪², 李智斌¹, 张彦焘¹(1.广州卫生职业技术学院药学系, 广州 510180; 2.广州市妇女儿童医疗中心外科, 广州 510623)

中图分类号 R361[†].3;R734 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)21-2931-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.21.11

摘要 目的:研究贝特类药物苯扎贝特和非诺贝特对肺腺癌PC-9细胞增殖和c-myc表达的影响。方法:采用CCK8法检测苯扎贝特和非诺贝特(12.5、25、50、100、200 μmol/L)作用48 h对PC-9细胞存活率的影响。另将PC-9细胞分为给药组和对照组,给药组分别加入低、中、高浓度(25、50、100 μmol/L)的苯扎贝特和非诺贝特,对照组加入二甲基亚砜,作用48 h后,采用流式细胞仪检测细胞周期分布及凋亡情况;荧光定量聚合酶链法(qRT-PCR)检测细胞中c-myc mRNA相对表达量;Western blot法检测细胞中c-myc蛋白相对表达量。结果:上述浓度苯扎贝特作用下PC-9细胞存活率分别为(80.76±3.2)%、(74.35±5.06)%、(62.8±1.23)%、(59.03±1.55)%、(39.8±1.01)%;而非诺贝特作用下PC-9细胞存活率分别为(74.46±1.30)%、(61.91±4.77)%、(48.95±2.8)%、(37.05±1.55)%、(32.49±1.36)%。与对照组比较,苯扎贝特和非诺贝特的中、高浓度组G₁期细胞比率均明显增加,苯扎贝特和非诺贝特的低、中、高浓度组的细胞凋亡率均明显增加,c-myc mRNA和蛋白相对表达量均明显降低,差异具有统计学意义(P<0.05)。结论:苯扎贝特和非诺贝特可抑制PC-9细胞增殖,并下调c-myc表达。

关键词 苯扎贝特;非诺贝特;肺腺癌PC-9细胞;半数抑制浓度;c-myc;抑制作用

- 159-161.
- [2] KAKDE D, TARESCO V, BANSAL KK, et al. Amphiphilic block copolymers from a renewable ε-decalactone monomer: prediction and characterization of micellar core effects on drug encapsulation and release[J]. *J Mater Chem B*, 2016, 4(44):7119-7129.
- [3] 潘超, 刘会丽, 许俊鹏, 等. 抗肿瘤药H6聚合物胶束的制备及体外抗肿瘤作用研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(4):533-536.
- [4] KATO KS, NISHIYAMA N, KOZAKI M, et al. General considerations regarding the in vitro and in vivo properties of block copolymer micelle products and their evaluation[J]. *J Control Release*, 2015. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.05.259.
- [5] HU Q, RIJCKEN CJF, VAN GAAL E, et al. Tailoring the physicochemical properties of core-crosslinked polymeric micelles for pharmaceutical applications[J]. *J Control Release*, 2016. DOI:10.1016/j.jconrel.2016.07.012.
- [6] MOCHIDA Y, CABRAL H, KATAOKA K. Polymeric micelles for targeted tumor therapy of platinum anticancer drugs[J]. *Expert Opin Drug Del*, 2017, 14(12):1423-1438.
- [7] TAN Y, QI J, LU Y, et al. Lecithin in mixed micelles attenuates the cytotoxicity of bile salts in Caco-2 cells[J]. *Toxicol in Vitro*, 2013, 27(2):714-720.
- [8] 宗蕊, 沈丽霞. 聚合物胶束载药系统的研究进展[J]. *神经药理学报*, 2015, 5(6):21-28.
- [9] 李继昭, 袁志强, 闫萌, 等. cRGD介导的pH敏感性紫杉醇羧甲基壳聚糖-软脂酸胶束[J]. *药学学报*, 2016, 51(4):642-649.
- [10] LEAMON CP, LOW PS. Folate-mediated targeting: from diagnostics to drug and gene delivery[J]. *Drug Discov Today*, 2001, 6(1):44-51.
- [11] LÜ Q, HAN M, LI LM, et al. Study of doxorubicin liposome modified with transferrin and folic acid targeting to glioma in vitro[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2012, 29(11):963-970.
- [12] VERONESE FM, PASUT G. PEGylation, successful approach to drug delivery[J]. *Drug Discov Today*, 2005, 10(21):1451-1458.
- [13] 赵凯艳. 乳铁蛋白修饰蛇床子素长循环脂质体的研究[D]. 石家庄:河北科技大学, 2018.
- [14] 姚丽, 冯红玄, 霍红, 等. 独活活性成分蛇床子素的药理学研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2012, 30(10):2221-2225.
- [15] 林黎, 钱晓萍, 刘宝瑞, 等. 独活醇提物及其单体蛇床子素体外抗肿瘤活性的实验研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(9):1930-1932.

Δ 基金项目:广东省科技发展专项(No.2016A020215213);广州市教育局市属高校科研项目(No.1201620370)

* 副教授, 博士。研究方向:抗肿瘤药物筛选及机制。电话:020-86201900。E-mail: docgpwang@163.com

(收稿日期:2019-06-25 修回日期:2019-09-12)

(编辑:邹丽娟)