# 人参皂苷 Rk1 修饰的伊曲康唑新型脂质体的构建及抗肿瘤活性初步研究

钟欣 $^{1,2}$ , 崔雅琦 $^2$ , 汪小又 $^2$ , 李翀 $^{2*}$ (1.四川省内江市第一人民医院药剂科, 四川 内江 641000; 2.西南大学药学院, 重庆 400715)

摘要:目的 制备一种人参皂苷 Rk1 修饰的伊曲康唑新型脂质体(R-ITZ-Lip)用于肿瘤治疗,并初步考察其体内外抗肿瘤药效。方法 采用逆向蒸发法制备 R-ITZ-Lip,对其进行粒径、电位、包封率等表征研究;采用荧光显微镜和流式试验定性定量考察 R-ITZ-Lip 体外肿瘤细胞靶向性,采用活体和离体成像试验考察其体内肿瘤靶向性;采用 MTT 试验和肿瘤生长曲线考察其体内外药效。结果 R-ITZ-Lip 外观呈圆形,平均粒径为(124.67±2.05)nm,包封率为(97.49±1.93)%;体外细胞摄取试验结果表明,R-ITZ-Lip 能够被乳腺癌细胞 4T1 特异性摄取,活体和离体成像结果表明 R-ITZ-Lip 在 4T1 异种移植小鼠模型的肿瘤部位分布显著增强;MTT 试验表明 R-ITZ-Lip 对 4T1 细胞表现出较好的抑制作用,IC50 为 1.37  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>,低于伊曲康唑胆固醇脂质体(C-ITZ-lip)的 3.12  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>,4T1 异种移植小鼠模型体内药效结果表明,R-ITZ-Lip 有效地抑制了肿瘤的生长,R-ITZ-lip 组的抑瘤率为 83.54%,优于 C-ITZ-lip 组(73.87%)和 ITZ 注射液组(57.86%)。结论 构建了一种用于治疗肿瘤的 R-ITZ-Lip,具有改善的制剂学性质,能够实现肿瘤的精准靶向,提高治疗效果。

关键词: 人参皂苷 Rk1; 伊曲康唑; 脂质体; 主动靶向; 肿瘤

中图分类号: R944.9 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)21-2865-07

**DOI:** 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.21.024

引用本文: 钟欣, 崔雅琦, 汪小又, 等. 人参皂苷 Rk1 修饰的伊曲康唑新型脂质体的构建及抗肿瘤活性初步研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(21): 2865-2871.

# Construction of a Novel Itraconazole Liposome Modified by Ginsenoside Rk1 and Preliminary Studies on Its Antitumor Activity

ZHONG Xin<sup>1,2</sup>, CUI Yaqi<sup>2</sup>, WANG Xiaoyou<sup>2</sup>, LI Chong<sup>2\*</sup>(1.Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Neijiang, Neijiang 641000, China; 2.College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare a novel itraconazole liposome modified by ginsenoside Rk1(R-ITZ-Lip) for tumor therapy and investigate its antitumor efficacy *in vitro* and *in vivo*. METHODS R-ITZ-Lip was prepared by reverse evaporation method, and its particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency were investigated. The *in vitro* and *in vivo* tumor targeting of R-ITZ-Lip was evaluated by fluorescence microscopy, flow cytometry and *in vivo* and *in vitro* imaging experiments. MTT cytotoxicity tests and tumor growth inhibitory rate were used to evaluate the antitumor efficacy *in vitro* and *in vivo*. RESULTS R-ITZ-Lip showed a rounded morphology with average particle size of (124.67±2.05)nm and encapsulation efficiency of (97.49±1.93)%. The cellular uptake experiments showed that R-ITZ-Lip could be better taken up by mouse triple-negative breast cancer 4T1 cells, and the *in vivo* and *in vitro* fluorescence imaging results showed that the distribution of R-ITZ-Lip in tumor sites was significantly enhanced in 4T1 xenograft mouse model. In the MTT cytotoxicity tests, R-ITZ-Lip showed concentration-dependent cytotoxicity to 4T1 cells with IC<sub>50</sub> of 1.37 μg·mL<sup>-1</sup>, which was much lower than that of 3.12 μg·mL<sup>-1</sup> of the itraconazole cholesterol liposomes(C-ITZ-Lip). In the 4T1 xenograft model, R-ITZ-Lip more effectively inhibited the tumor growth, angiogenesis and malignant proliferation of tumor cells. The tumor inhibition rate of R-ITZ-lip group was 83.54%, which was significantly better than that of C-ITZ-lip group(73.87%) and ITZ injection group(57.86%). CONCLUSION R-ITZ-Lip is constructed for tumor therapy, which exhibits the characteristics of improved pharmacologic properties, precise tumor targeting and enhanced therapeutic effect.

KEYWORDS: ginsenoside Rk1; itraconazole; liposome; active targeting; tumor

开发新的抗肿瘤药物是一个昂贵、耗时,具有较大失败风险的过程<sup>[1-2]</sup>,在已获得批准的药物中开发具有抗肿瘤活性的药物是一种有效的替代方法,可以在一定程度上缩短新药开发的过程,降低成本和风险<sup>[3-4]</sup>。伊曲康唑(itraconazole, ITZ)是一种经典的抗真菌药物,具有较好的临床安全性,近年来

在抗肿瘤研究中也显示出较好的疗效<sup>[5-9]</sup>,将抗真菌药物 ITZ 用于肿瘤治疗具有巨大的应用前景。

然而, ITZ 在水中溶解度 $<1 \text{ ng·mL}^{-1[10]}$ , 口服制剂生物利用度低、个体差异大,导致有效血药浓度较低,注射液由于使用大量羟丙基- $\beta$ -环糊精增溶造成毒性较大,目前已经停止上市[11],市面

基金项目: 国家自然科学基金项目(82073789)

作者简介: 钟欣, 女, 硕士 E-mail: 1729404487@qq.com

\*通信作者: 李翀, 男, 博士, 教授 E-mail: chongli@swu.edu.cn

上缺乏 ITZ 静脉给药制剂。因此,为了克服 ITZ 的难溶性以及市售制剂存在的问题,急需开发一种安全有效、质量可控、制备简单的 ITZ 静脉注射制剂用于肿瘤治疗。

脂质体是一种较为成熟的药物递送系统,主要由磷脂和胆固醇等组成,能有效改善药物溶解性,并且具有良好的安全性以及肿瘤靶向性等,目前已广泛应用于临床肿瘤治疗<sup>[12-13]</sup>。肿瘤细胞为了维持自身快速生长、增殖和转移的需要,大量表达葡萄糖转运蛋白(glucose transporters, GLUT)以满足其对葡萄糖的摄取和代谢需求,过量表达的GLUT能与糖类分子特异性结合,是研究抗肿瘤药物的重要靶点<sup>[14]</sup>。

已有研究表明, ITZ 脂质体存在粒径大、包封率和载药量低等问题<sup>[15-17]</sup>, 用于肿瘤治疗仍具挑战。基于课题组前期研究,从多种人参皂苷中优选得到的人参皂苷 Rg5 替代胆固醇构建的紫杉醇脂质体能有效改善脂质体的制剂学性质和递送功能<sup>[18]</sup>, 本研究从多种人参皂苷中优选人参皂苷 Rk1构建 ITZ 脂质体,以期提高 ITZ 脂质体的理化性质和疗效。人参皂苷 Rk1是从人参中提取得到的一种活性成分,具有抗肿瘤活性<sup>[19]</sup>, 其具有与胆固醇相似的母核结构(图 1), 能够有效发挥胆固醇在脂质体构建中的作用,同时其存在的葡萄糖残基可能改善脂质体理化性质及主动靶向肿瘤部位提高药效。基于此,本研究拟构建一种人参皂苷Rk1 修饰的 ITZ 新型脂质体,并初步考察其体内外抗肿瘤作用。

# 1 材料

#### 1.1 细胞与动物

小鼠乳腺癌细胞 4T1,购自普诺赛生物技术有限公司。

SPF 级 BALB/c 小鼠, ♂, 48 只, 体质量 18~25 g, 由湖南斯克莱景达实验动物有限公司提供, 动物生产许可证号: SCXK(湘)2019-0006; 动物使用许可证号: SYXK(渝)2020-0006; 实验动物伦理审查号: IACUC-20200610-01。

#### 1.2 试剂与仪器

DMSO、甲醇、乙醇、二氯甲烷(分析纯,成 都科龙试剂有限公司); 甲醇(色谱纯, 上海泰坦科 技股份有限公司); DMEM 不完全高糖培养基、 0.05%胰酶 EDTA 细胞消化液(江苏凯基生物技术 股份有限公司); 胎牛血清(美国 Gibco 公司); 香 豆素 6(C6, 批号: K1421041)、IR783(批号: DCM9286)、MTT(批号: 01127010350)均购自阿拉 丁试剂有限公司: DAPI 细胞核染料(碧云天生物技 术有限公司, 批号: 062521211130); 4%多聚甲醛 细胞固定液(北京鼎国昌盛生物试剂有限责任公 司, 批号: 22105339); 蛋黄卵磷脂(上海艾伟拓医 药科技有限公司, 批号: EK19068); 胆固醇(上海 艾伟拓医药科技有限公司, 批号: 21A10150); 人 参皂苷 Rk1(厦门本素药业有限公司, 批号: GA16-IB-21120); ITZ(阿拉丁试剂有限公司, 批号: 11428144);磷钨酸(上海麦克林生化科技有限公 司, 批号: C10041854); 羟丙基-β-环糊精(批号: BNU986)、阿霉素(doxorubicin, DOX, 批号: BGW591)均购自上海毕得医药科技有限公司。

TB-215-D 电子天平(美国 Denver 公司); IKAHB10旋转蒸发仪(德国 IKA公司);SB-5200DT 超声波清洗机、JY92-H 型超声波细胞粉碎机(宁波 新芝生物科技股份有限公司); UPR-II-15TNZP 超 纯水制造系统(四川优普超纯科技有限公司); ZEV3600 激光粒度仪(英国 Mastersizer 公司); LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司);

图 1 人参皂苷 Rk1 与胆固醇结构对比图

Fig. 1 Structure comparison of ginsenoside Rk1 and cholesterol

色谱柱为 Luna C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.60 mm, 5 μm); Centrifuge 5430R 高速冷冻离心机(英国 Eppendorf 公司); HT7800 透射电子显微镜(日本 HITACHI 公司); FACSVerse 流式细胞仪(美国 BD 公司); DMIB 倒置荧光显微镜(德国 Leica 公司); Invivo Smart-LF 小动物荧光成像系统(韩国 VIE-WORKS 公司); Esco ccl-170d-8 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱、生物安 全柜(新加坡 ESCO 公司); BIO-RAD Model 680 型 酶标仪(北京成志科为生物技术有限公司)。

#### 2 方法

2.1 Rk1 修饰的载药脂质体及对照组制剂的制备 采用逆向蒸发法制备脂质体,将 2 mg ITZ、2 mg Rk1,10 mg 蛋黄卵磷脂溶于 200 μL 乙醇:二氯甲烷=1:1 的混合溶液中,加入1 mL 5%葡萄糖溶液,60 W 超声 1 min 后通过减压旋转蒸发除去有机溶剂,得到 Rk1 修饰的 ITZ 脂质体(R-ITZ-Lip)。以等量胆固醇替代 Rk1 以同样工艺制备得到对照普通胆固醇脂质体(C-ITZ-Lip)。

以薄膜水化法制备包载不同荧光探针的脂质体用于后续实验,以 C6 为荧光探针分别制备 R-ITZ-Lip/C6和C-ITZ-Lip/C6用于流式细胞检测,以 IR783位荧光探针分别制备 R-ITZ-Lip/IR783和 C-ITZ-Lip/IR783用于荧光成像检测。

采用薄膜水化法制备 Rk1-Lip, 将 2 mg Rk1, 10 mg 蛋黄卵磷脂溶于适量乙醇:二氯甲烷=1: 1 的混合溶液中,通过减压旋转蒸发除去有机溶剂,得到脂质体膜,加入 1 mL 5%葡萄糖溶液水化超声得到脂质体。

#### 2.2 脂质体的表征

用激光散射粒度仪测定脂质体的粒径及其分散情况,并用透射电镜观察纳米粒的外观形态。 采用 HPLC 测定药物包封率,取 10 μL 载药脂质体加入 990 μL 甲醇涡旋超声破坏脂质体,11 000 ×g 离心后取上清为总药物含量 W1,另取适量脂质体溶液于 4 500 ×g 离心 10 min,取 10 μL上清加入 990 μL 甲醇涡旋超声破坏脂质体,为除去游离 ITZ 后的药物含量 W2,包封率(%)=W2/W1×100%。

## 2.3 细胞体外摄取试验

将处于对数生长期的 4T1 细胞消化计数后,按每孔  $1\times10^5$ 个接种到 24 孔细胞培养板中,置于细胞培养箱中过夜培养( $37\ ^{\circ}C$ ,  $5\%CO_2$ )。吸出旧培养基后,向各孔中加入 C-ITZ-Lip/C6 和 R-ITZ-

Lip/C6 至 C6 终浓度为 1 μg·mL<sup>-1</sup>,避光孵育 1 h。 孵育结束后,吸出培养基,加入 PBS 浸洗 3 次。 加入 4%多聚甲醛对细胞进行固定 30 min,吸出细胞固定液后加入 PBS 浸洗 3 min 后,加入 DAPI 细胞核染液避光孵育 5 min,PBS 浸洗 3 次后,使用倒置荧光显微镜进行拍照观察。

进一步定量分析 4T1 细胞对各脂质体的摄取情况,将处于对数生长期的 4T1 细胞消化计数后,按每孔  $1\times10^5$  个接种到 24 孔细胞培养板中,置于细胞培养箱中过夜培养(37 °C,5%CO<sub>2</sub>)。吸出旧培养基后,向各孔中加入 C-ITZ-Lip/C6 和 R-ITZ- Lip/C6 至 C6 终浓度为  $1~\mu g \cdot m L^{-1}$ ,避光孵育 1~h。孵育结束后,吸出培养基,加入 PBS 浸洗  $3~\chi$ 。在细胞避光孵育后,弃去旧培养基。加入胰蛋白酶细胞消化液对孔中细胞进行消化,再加入 400  $\mu$ L PBS 进行重悬,使用流式细胞仪测定细胞的平均荧光强度。

#### 2.4 小鼠活体和离体成像试验

将 4T1 细胞消化后, PBS 洗涤 1 次, 离心收集细胞沉淀后, 加入 PBS 进行重悬, 按每只鼠 5×10<sup>7</sup>个细胞皮下注射于小鼠后侧背部。4T1 荷瘤小鼠模型在 SPF 级饲养环境中正常饲养, 按时检测肿瘤增长状态, 待皮下瘤体积在 150 mm³ 左右时, 用于活体和离体成像试验。

将 4T1 荷瘤小鼠随机分为 2 组,每组 3 只,经尾静脉分别注射 R-ITZ-Lip/IR783、C-ITZ-Lip/IR783,在不同时间点将各实验组 4T1 荷瘤小鼠麻醉,使用 VISQUE 小动物荧光成像系统拍摄,并观察各实验组 4T1 荷瘤小鼠肿瘤部位荧光蓄积情况。在不同时间点,将小鼠处死并解剖并收集心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织,使用 VISQUE小动物活体成像仪拍照并记录不同组织脏器的荧光分布情况。

# 2.5 细胞药效评价

体外药效评价采用 MTT 比色法进行分析。将 4T1 细胞按每孔 3 000 个细胞接种于 96 孔细胞培养板中,过夜培养(37 °C,5% CO<sub>2</sub>)。分别将游离 ITZ、Rk1、ITZ+Rk1(质量比为 1:1)、Rk1-Lip、C-ITZ-Lip、R-ITZ-Lip 以及阳性对照药 DOX 用培养基进行梯度稀释后加入到各孔中,每个浓度设置 6 个平行,并设置未加药液的孔作为对照组,不加细胞的孔作为调零孔,置于细胞培养箱培养 48 h(37 °C,5%CO<sub>2</sub>)。培养结束后,加入 20  $\mu$ L 的 MTT 溶液,继续培养 4 h,小心地吸去各孔中培养

液,再加入 150 μL 的 DMSO, 振荡 10 min 使各孔中甲瓒完全溶解后,使用荧光酶标仪在 490 nm 处检测各孔OD值。根据公式计算抑制率,细胞抑制率(%)=1-(实验组 OD 值-调零孔 OD 值)/(对照组 OD 值-调零孔 OD 值)×100%。使用 SPSS 数据分析软件拟合药效曲线并计算 IC<sub>50</sub>值。

# 2.6 乳腺癌异种移植模型小鼠体内药效研究

将 4T1 细胞皮下注射于小鼠腋下,待皮下瘤体积达到  $100 \text{ mm}^3$  左右时,将小鼠随机分为 5 组,平均每组 6 只并尾静脉给药以下制剂:生理盐水 (Control)、Rk1-Lip、ITZ-Inj、C-ITZ-Lip 和 R-ITZ-Lip,给药剂量均为  $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,给药时间为每 2 天 1 次,给药 5 次。

观察给药过程中小鼠的生理和精神状态,每2天使用小动物天平监测小鼠体质量变化,使用游标卡尺测量肿瘤生长体积,记录各组模型小鼠体质量和肿瘤体积变化并绘制肿瘤生长曲线图。肿瘤体积计算公式:  $V=(a\times b^2)/2$ , a 和 b 分别为肿瘤最宽处和最窄处的长度,实验结束后处死小鼠并收集瘤块。

#### 3 结果

# 3.1 脂质体表征

C-ITZ-Lip 与 R-ITZ-Lip 粒径分布均匀, C-ITZ-Lip 平均粒径为(182.67±3.68)nm, R-ITZ-Lip 平均粒径为(124.67±2.05)nm; 测得 C-ITZ-Lip 的 Zeta 电位为(-23.3±0.32)mV, R-ITZ-Lip 的 Zeta 电位为(-25.8±0.85)mV, 结果见图 2A。R-ITZ-Lip 形态圆整, 粒径大小合适, C-ITZ-Lip 较 R-ITZ-Lip 粒径稍大, 与粒度仪测定结果一致, 说明 Rk1 的修饰降低了 ITZ 脂质体的粒径, 结果见图 2C。纳米粒子<200 nm 时, 肝脾截留较少, 在体内循环时间更长, 通过肿瘤增强的渗透和滞留效应更易在肿瘤组织内聚集, 实现肿瘤被动靶向作用。

将游离药物除去后, C-ITZ-Lip 包封率为 (75.53±3.59)%, 载药量为(11.18±0.47)%, R-ITZ-Lip 包封率为(97.49±1.93)%, 载药量为(13.98±0.24)%, R-ITZ-Lip 包封率和载药量均显著高于 C-ITZ-Lip, 说明加入 Rk1 有效提高了 ITZ 的包封率。结果见图 2B。

#### 3.2 细胞体外摄取试验

肿瘤细胞大量表达 GLUT1 蛋白以满足其对葡萄糖的摄取和代谢需求, Rk1 的葡萄糖残基作为GLUT 的配体可与 GLUT 受体特异性结合而具有主动靶向肿瘤的作用。前期流式定量试验结果表明 4T1 细胞高表达 GLUT1 蛋白。进一步细胞摄取试验结果表明, R-ITZ-Lip/C6 组的荧光强度和细胞摄取量显著高于 C-ITZ-Lip/C6 组,R-ITZ-Lip/C6 组荧光强度是 C-ITZ-Lip/C6 组的 1.35 倍,表明 Rk1 的修饰有效促进了 4T1 细胞对 R-ITZ-Lip 的摄取。结果见图 3。

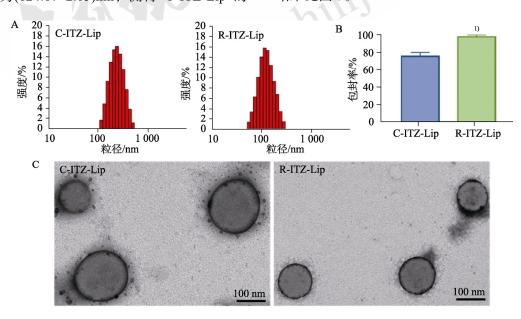


图 2 脂质体的表征(n=3)

A-粒径分布图; B-包封率测定结果; C-透射电镜图。与 C-ITZ-Lip 相比,  $^{1)}P$ <0.01。

**Fig. 2** Characterization of nanoparticles(n=3)

A-size distribution images; B-encapsulation efficiency determination result; C-transmission electron microscopy images. Compared with C-ITZ-Lip, <sup>1)</sup>P<0.01.

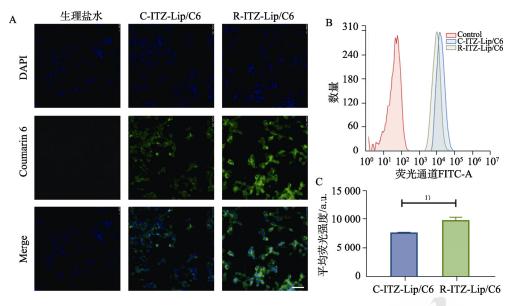


图 3 4T1 细胞对不同制剂的摄取结果(n=3)

A-荧光显微镜图(标尺: 60 μm); B-流式测定数据; C-流式结果荧光强度直方图。与 C-ITZ-Lip/C6 相比, <sup>1)</sup>P<0.01。

Fig. 3 Cellular uptake of different formulations by 4T1 cells

A-fluorescence microscope image(scale bar:  $60 \mu m$ ); B-flow cytometry data; C-fluorescence intensity histogram of flow cytometry results. Compared with C-ITZ-Lip/C6,  $^{1)}P$ <0.01.

### 3.3 小鼠活体成像试验

R-ITZ-Lip/IR783 组在 4T1 肿瘤部位具有更多的荧光聚集,表明 R-ITZ-Lip/IR783 具有较强的肿瘤主动靶向能力,证明 Rk1 的修饰提高了制剂在体内肿瘤部位的蓄积。结果见图 4。

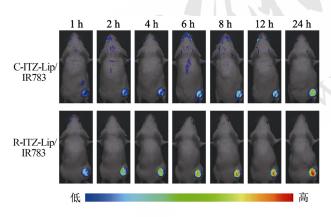


图 4 包载 IR783 荧光探针的不同制剂在 4T1 模型小鼠的活体成像荧光分布图(n=3)

**Fig. 4** *In vivo* fluorescence images of 4T1 xenograft model mice after injection of IR783-labeled liposomes(*n*=3)

# 3.4 小鼠离体成像试验

R-ITZ-Lip/IR783 组解剖下来的肿瘤组织比 C-ITZ-Lip/IR783 组检测到更强的荧光信号,表明 R-ITZ-Lip 在 4T1 肿瘤部位具有更多的聚集,离体 试验结果进一步证明 R-ITZ-Lip 具有较强的肿瘤 主动靶向能力。结果见图 5。

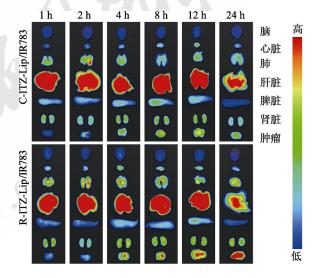


图 5 包载 IR783 荧光探针的不同制剂在 4T1 模型小鼠的 离体成像组织荧光分布图

Fig. 5 In vitro fluorescence images of 4T1 xenograft model mice after injection of IR783-labeled liposomes

# 3.5 细胞药效评价

采用 MTT 比色法分析各制剂对 4T1 小鼠乳腺癌细胞生长的抑制作用,并以 DOX 作为阳性对照药物, DOX 的  $IC_{50}$  为 0.12  $\mu g \cdot m L^{-1}$ 。 R-ITZ-Lip 药效显著优于 C-ITZ-Lip, 且与游离 ITZ 药效非常接近,说明将 Rk1 嵌入脂质体包载 ITZ 药效得到显著提升,这可能与 Rk1 与 ITZ 产生了协同药效以及 R-ITZ-Lip 脂质体修饰了 Rk1 理化性质得到提升有关。结果见图 6 和表 1。

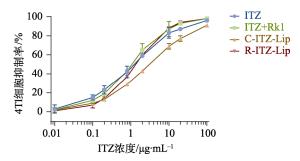


图 6 不同制剂对 4T1 细胞的体外药效评价

Fig. 6 In vitro efficacy evaluation of different formulations on 4T1 cells

#### 表1 不同制剂对 4T1 细胞的 IC50

**Tab. 1** IC<sub>50</sub> values of different formulations in 4T1 cells

制剂	$IC_{50}/\mu g\!\cdot\! mL^{-1}$
ITZ	1.08
ITZ+Rk1	0.99
C-ITZ-Lip	3.12
R-ITZ-Lip	1.37
Rk1	>100
Rk1-Lip	69.33
DOX	0.12

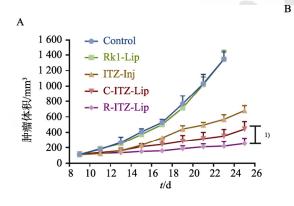
# 3.6 乳腺癌异种移植模型小鼠体内药效研究

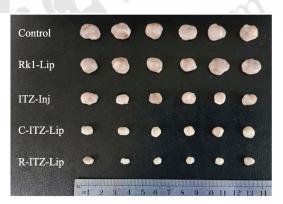
ITZ 给药组均显示出显著的肿瘤抑制作用,ITZ-Inj 组抑瘤率为 57.86%,C-ITZ-Lip 组抑瘤率为 73.87%,R-ITZ-Lip 组抑瘤率为 83.54%,展现出ITZ 用于肿瘤治疗的良好前景。其中,R-ITZ-Lip 药效最佳,可能由于其较好的脂质体理化性质、肿瘤主动靶向性以及更高的生物利用度等综合作用,导致疗效增强。以上结果表明,R-ITZ-Lip 更有效地抑制了小鼠乳腺癌增殖,具有广阔的前景。结果见图 7。

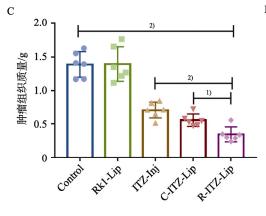
#### 4 讨论

本研究选用抗真菌药物 ITZ 用于抗肿瘤,可以提高研发效率,降低研发成本,并成功构建了一种人参皂苷 Rk1 修饰的新型 ITZ 仿生脂质体,改善了 ITZ 溶解性,具有稳定、高效、安全等优点,为肿瘤治疗提供了新的方法。

人参皂苷 Rk1 具有与胆固醇相似的母核结构, 能够有效发挥胆固醇在脂质体构建中的作用;同时,与胆固醇相比,人参皂苷 Rk1 还具有更多的 优良特性,其疏水性苷元结构插入脂质膜层中,







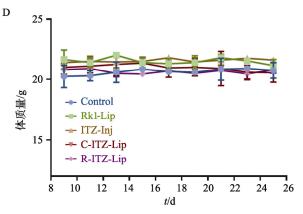


图 7 不同制剂对 4T1 模型小鼠的体内药效试验(n=6)

A-肿瘤生长曲线; B-瘤体图像; C-肿瘤组织质量; D-小鼠体质量变化情况。与 R-ITZ-Lip 组比, <sup>1)</sup>P<0.01, <sup>2)</sup>P<0.001。

Fig. 7 In vivo efficacy experiment of different formulations in 4T1 xenograft model mice(n=6)

A-tumor growth curve; B-tumor image; C-tumor weight; D-changes of mouse body weight. Compared with the R-ITZ-Lip group, \(^1)P<0.01,\(^2)P<0.001.\)

亲水性糖基延伸至脂质体表面,皂苷分子中的糖环和羟基易与脂质体中磷脂极性头部的氢键受体结合形成氢键,提高脂质体的稳定性和包封率。本研究制备的 ITZ 胆固醇对照脂质体和文献报道的 ITZ 脂质体粒径均较大,包封率和载药量较低,使用Rk1 替代胆固醇后构建的R-ITZ-Lip粒径显著减小,分布均一,包封率增加,脂质体理化性质改善,有利于 ITZ 靶向递送于肿瘤组织。

另一方面,人参皂苷 Rk1 的亲水糖苷链中的葡萄糖残基是肿瘤细胞高表达的 GLUT1 受体的底物,为 GLUT1 受体提供配体,提高 ITZ 在肿瘤细胞中的蓄积量;此外,Rk1 与 ITZ 产生协同的抗肿瘤效果。改善的理化性质、Rk1 与 ITZ 的协同抗肿瘤作用以及肿瘤主动靶向性综合作用提高脂质体药效。

综上,本研究基于人参皂苷 Rk1 的类胆固醇结构和葡萄糖残基,将经典抗真菌药 ITZ 用于抗肿瘤,构建了一种新型的含人参皂苷 Rk1 的 ITZ 脂质体,初步证明该递送系统具有良好的载药能力,对乳腺癌异种移植模型展现出较好的抗肿瘤的药效,且具有良好的安全性,在肿瘤治疗中有望发挥更好的作用。

#### REFERENCES

- [1] A decade in drug discovery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(1): 3.
- [2] MAEDA H, KHATAMI M. Analyses of repeated failures in cancer therapy for solid tumors: Poor tumor-selective drug delivery, low therapeutic efficacy and unsustainable costs[J]. Clin Transl Med, 2018, 7(1): 11.
- [3] PARVATHANENI V, KULKARNI N S, MUTH A, et al. Drug repurposing: A promising tool to accelerate the drug discovery process[J]. Drug Discov Today, 2019, 24(10): 2076-2085.
- [4] PUSHPAKOM S, IORIO F, EYERS P A, et al. Drug repurposing: Progress, challenges and recommendations[J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(1): 41-58.
- [5] CHONG C R, XU J, LU J, et al. Inhibition of angiogenesis by the antifungal drug itraconazole[J]. ACS Chem Biol, 2007, 2(4): 263-270.
- [6] HU Q, HOU Y C, HUANG J, et al. Itraconazole induces apoptosis and cell cycle arrest via inhibiting Hedgehog

- signaling in gastric cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1): 50.
- [7] GUPTA A, UNADKAT J D, MAO Q C. Interactions of azole antifungal agents with the human breast cancer resistance protein (BCRP)[J]. J Pharm Sci, 2007, 96(12): 3226-3235.
- [8] TSUBAMOTO H, SONODA T, YAMASAKI M, et al. Impact of combination chemotherapy with itraconazole on survival of patients with refractory ovarian cancer[J]. Anticancer Res, 2014, 34(5): 2481-2487.
- [9] TSUBAMOTO H, SONODA T, INOUE K. Impact of itraconazole on the survival of heavily pre-treated patients with triple-negative breast cancer[J]. Anticancer Res, 2014, 34(7): 3839-3844.
- [10] PEETERS J, NEESKENS P, TOLLENAERE J P, et al. Characterization of the interaction of 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin with itraconazole at pH 2, 4, and 7[J]. J Pharm Sci, 2002, 91(6): 1414-1422.
- [11] MALANGA M, SZEMÁN J, FENYVESI É, et al. "Back to the future": A new look at hydroxypropyl beta-cyclodextrins[J]. J Pharm Sci, 2016, 105(9): 2921-2931.
- [12] BARENHOLZ Y. Doxil®: The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned[J]. J Control Release, 2012, 160(2): 117-134.
- [13] KRAFT J C, FREELING J P, WANG Z Y, et al. Emerging research and clinical development trends of liposome and lipid nanoparticle drug delivery systems[J]. J Pharm Sci, 2014, 103(1): 29-52.
- [14] ADEKOLA K, ROSEN S T, SHANMUGAM M. Glucose transporters in cancer metabolism[J]. Curr Opin Oncol, 2012, 24(6): 650-654.
- [15] TANG J L, WEI H, LIU H M, et al. Pharmacokinetics and biodistribution of itraconazole in rats and mice following intravenous administration in a novel liposome formulation[J]. Drug Deliv, 2010, 17(4): 223-230.
- [16] EH SUK V R, MARLINA A, HUSSAIN Z, et al. N-stearoyl chitosan as a coating material for liposomes encapsulating itraconazole[J]. Arab J Sci Eng, 2021, 46(6): 5645-5653.
- [17] YOON S W, SHIN D H, KIM J S. Liposomal itraconazole formulation for the treatment of glioblastoma using inclusion complex with HP-β-CD[J]. J Pharm Investig, 2019, 49(4): 477-483.
- [18] WANG X, ZHENG W W, SHEN Q, et al. Identification and construction of a novel biomimetic delivery system of paclitaxel and its targeting therapy for cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 33.
- [19] KO H, KIM Y J, PARK J S, et al. Autophagy inhibition enhances apoptosis induced by ginsenoside Rk1 in hepatocellular carcinoma cells[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(10): 2183-2189.

收稿日期: 2022-08-18 (本文责编: 沈倩)