# 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<sup>1,2</sup>,崔雅琦<sup>2</sup>,汪小又<sup>2</sup>,李翀<sup>2\*</sup>(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 μg·mL<sup>-1</sup>, 低于伊曲康唑胆固醇脂质体(C-ITZ-lip)的 3.12 μg·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* and *in vivo*. **RESULTS** rytoxicity 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  $(124.67\pm2.05)$ nm and encapsulation efficiency of  $(97.49\pm1.93)$ %. 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 showed concentration-dependent cytotoxicity to 4T1 cells with IC<sub>50</sub> of  $1.37 \,\mu$ g·mL<sup>-1</sup>, which was much lower than that of  $3.12 \,\mu$ g·mL<sup>-1</sup> of the itraconazole cholesterol liposomes(C-ITZ-Lip). In the 4T1 xenograft model, 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 ng·mL<sup>-1[10]</sup>, 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-β-环糊精 增溶造成毒性较大,目前已经停止上市<sup>[11]</sup>,市面

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

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

中国现代应用药学 2022 年 11 月第 39 卷第 21 期

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

· 2866 · Chin J Mod Appl Pharm, 2022 November, Vol.39 No.21

中国现代应用药学 2022 年 11 月第 39 卷第 21 期

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 1×10<sup>5</sup>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 ℃,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-

中国现代应用药学 2022 年 11 月第 39 卷第 21 期

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 1×10<sup>5</sup>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℃, 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 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。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 µL 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 mm<sup>3</sup> 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 ℃,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 ℃,5%CO<sub>2</sub>)。培养结束后,加入 20 µL 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 mm<sup>3</sup>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 mg·kg<sup>-1</sup>,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×b<sup>2</sup>)/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 组的5光强度和细 胞摄取量是 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, <sup>1)</sup>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, 1)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 µm); 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。





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

#### 小鼠离体成像试验 3.4

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。



4 h

8 h

12 h

24 h

高

低

脑

心脏 肺

2 h

1h

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<sub>50</sub> 为 0.12 μg·mL<sup>-1</sup>。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, <sup>1)</sup>P<0.01, <sup>2)</sup>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

- 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-βcyclodextrin 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<sup>®</sup>: 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)