# 载阿霉素的大黄酸偶联物胶束的制备及其细胞毒性评价

韩利峰,欧阳惠枝,邱梁桢,谢玉萌,徐伟,王晓颖\*(福建中医药大学,福州 350122)

摘要:目的 制备载阿霉素(doxorubicin, DOX)的 TPGS 修饰的羧甲基壳聚糖-大黄酸(TPGS-CR)偶联物胶束 (DOX/TPGS-CR 胶束),考察其体外对人乳腺癌 MCF-7 细胞的毒性。方法 以TPGS-CR 偶联物为载体材料,利用透析法 制备 DOX/TPGS-CR 胶束,使用动态激光粒径测定仪测定其粒径,紫外分光光度法测定载药量和包封率;在 pH 7.4 的 PBS 中进行了体外释放研究,计算了 DOX 的累计释放率,绘制了累计释放曲线;MTT 法检测其对人乳腺癌 MCF-7 细胞毒作 用,计算细胞的存活率。结果 DOX/TPGS-CR 胶束的平均粒径为(151.3±1.8)nm, PDI 为 0.129±0.020, 电位为 (-26.9±0.8)mV,载药量为(23.16±0.01)%,包封率为(55.00±0.04)%。DOX/TPGS-CR 胶束在 pH 7.4 的 PBS 中,24 h 时累计释放 DOX 仅有(35.73±2.21)%,而游离 DOX·HCl 在 6 h 时累计释放达到了(90.25±6.20)%;DOX/TPGS-CR 胶束浓度在 5~20 µg·mL<sup>-1</sup>内,尤其在 48 h 时,对 MCF-7 细胞杀伤能力强于 DOX·HCl。结论 DOX/TPGS-CR 胶束对 MCF-7 细胞杀伤能力强于 DOX·HCl。结论 DOX/TPGS-CR 胶束对 MCF-7 细胞杀伤能力强于 MACF-7 细胞杀伤能力强于 DOX·HCl。结论 DOX/TPGS-CR 胶束对 MCF-7 细胞杀伤能力强于 DOX·HCl。结论 DOX/TPGS-CR 胶束对 MCF-7 细胞有较强的杀伤作用。

关键词: 阿霉素; TPGS 修饰的羧甲基壳聚糖-大黄酸偶联物; 聚合物胶束; MCF-7 细胞 中图分类号: R944.4; R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)16-1921-05 DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.16.001 引用本文: 韩利峰, 欧阳惠枝, 邱梁桢, 等. 载阿霉素的大黄酸偶联物胶束的制备及其细胞毒性评价[J]. 中国现代应用药

学, 2020, 37(16): 1921-1925.

### Preparation and Cytotoxicity Evaluation of Doxorubicin-loaded Rhein Conjugate Micelles

HAN Lifeng, OUYANG Huizhi, QIU Liangzhen, XIE Yumeng, XU Wei, WANG Xiaoying<sup>\*</sup>(Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To prepare doxorubicin(DOX)-loaded TPGS modified carboxymethyl chitosan-rhein(TPGS-CR) polymeric micelles(DOX/TPGS-CR PMs), and study its cytotoxicity in human breast cancer MCF-7 cells *in vitro*. **METHODS** DOX/TPGS-CR PMs were prepared by dialysis method using TPGS-CR conjugate. The particle size of DOX/TPGS-CR PMs was detected by dynamic light scattering(DLS), the entrapment efficiency(EE) and the drug loading-capacity(DL) were studied by Ultraviolet spectrophotometry. The vitro release studies were performed in PBS(pH 7.4), the cumulative release rate of DOX was calculated, and the cumulative release profile was plotted. The cytotoxicity of DOX/TPGS-CR PMs in human breast cancer MCF-7 cells was detected by MTT assay, and the survival rate of the cells was calculated. **RESULTS** The average particle size and polydispersity coefficient of DOX/TPGS-CR PMs were (151.3±1.8)nm and 0.129±0.020, respectively. The zeta potential of DOX/TPGS-CR PMs was( $-26.9\pm0.8$ )mV. The DL and EE of DOX/TPGS-CR PMs were( $23.16\pm0.01$ )% and( $55.00\pm0.04$ )%, respectively. Cumulative release of DOX in PBS(pH 7.4) from DOX/TPGS-CR PMs was only about( $35.73\pm2.21$ )% at 24 h, while the cumulative release of free DOX·HCl reached( $90.25\pm6.20$ )% at 6 h. The cytotoxicity of DOX/TPGS-CR PMs was better than doxorubicin hydrochloride(DOX·HCl) in the concentration range of  $5-20 \ \mu g \cdot mL^{-1}$ , especially at 48 h. **CONCLUSION** The DL of DOX/TPGS-CR PMs is good, and the particle size is small and uniform. DOX/TPGS-CR PMs have a sustained-release characteristic. TPGS-CR PMs is good, and the particle size is small and uniform. DOX/TPGS-CR PMs have a sustained-release characteristic. TPGS-CR conjuage is less toxic and safe. DOX/TPGS-CR PMs display cytotoxicity significantly in MCF-7 cells. **KEYWORDS:** doxorubicin; TPGS modified carboxymethyl chitosan-rhein polymeric micelles; polymer micelles; MCF-7 cells

阿霉素(doxorubicin, DOX)为蒽环类广谱抗肿 瘤药物,其通过插入 DNA 双链结构中阻止 DNA 的复制,同时也可以抑制拓扑异构酶 II (topoisomerase 2, TOP2)的功能,结合 DNA 形成 TOP2-DOX-DNA 裂解复合物,破坏 DNA 结构, 产生细胞毒性作用<sup>[1]</sup>。DOX 难溶于水,而盐酸阿 霉素(DOX·HCl)虽然水溶性好,但不具有靶向性, 易被 P-糖蛋白(P-gp)外排引起多药耐药现象,而且

作者简介:韩利峰,男,硕士生 Tel: 13593471314 E-mail: hlfeng1111@163.com <sup>\*</sup>通信作者: 王晓颖,女,博士,副教授 Tel:

13960704809 E-mail: wangxy623@yeah.net

中国现代应用药学 2020 年 8 月第 37 卷第 16 期

Chin J Mod Appl Pharm, 2020 August, Vol.37 No.16 · 1921 ·

基金项目:国家自然科学基金项目(81603301);福建省卫生计生中青年骨干人才培养项目(2016-ZQN-69)

有严重的不良反应,尤其是心脏毒性作用<sup>[2-4]</sup>。使 用纳米递药系统递送 DOX,通过 EPR 效应可有效 增加 DOX 在肿瘤部位的积累,同时减少多药耐药 现象的发生,增强抗肿瘤作用。

聚合物胶束作为具有壳-核结构的纳米递药 载体,能将疏水性药物包裹在其疏水内核中,增 加难溶性药物的水溶性,同时可降低药物对正常 组织的不良反应<sup>[5]</sup>。研究表明,大黄酸有一定的 抗肿瘤作用,同时可与 DOX 产生协同作用,降 低肿瘤细胞中线粒体的能量,并在逆转 DOX 的 多药耐药性方面有一定作用<sup>[6-8]</sup>。故本研究用本课 题组前期合成的维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯 (TPGS)修饰的羧甲基壳聚糖-大黄酸(TPGS-CR) 偶联物为载体材料,制备载 DOX 的聚合物胶束 (DOX/TPGS-CR 胶束),并评价其细胞毒性。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Zetasizer Nano ZS90 型激光粒度仪(英国 Malvern 公司); MS105DU型十万分之一电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); TU-1901型双光束 紫外可见分光光度计(北京谱析通用仪器有限责任 公司); TDL-50H型低速离心机(上海安亭科学仪器 厂); JY92-2D型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物 科技股份有限公司); Infinite M200 PRO 型多功能 酶标仪(瑞士 TECAN 公司); ALPHA1-2 LD 型冷 冻干燥机(德国 Christ 公司); DKZ 系列电热恒温振 荡水槽(上海一恒科技有限公司); Thermo 311 型细 胞培养箱(美国 Thermo 公司); MWCO14000 型透 析袋(上海绿鸟科技发展有限公司)。

### 1.2 试剂与药品

二甲基亚砜(分析纯,上海泰坦科技股份有限 公司);三乙胺、二水合磷酸二氢钠、十二水合磷 酸氢二钠、氯化钾均为分析纯,来自国药集团股 份有限公司;磷酸二氢钾(分析纯,上海泰坦科技 股份有限公司);氯化钠(分析纯,西陇化工有限公 司);磷酸盐缓冲液(HyClone<sup>TM</sup>,批号: AE26543276)、0.25%胰蛋白酶溶液(1×,Hy Clone<sup>TM</sup>)、青霉素链霉素溶液(HyClone<sup>TM</sup>)均来自 美国通用电气集团;噻唑蓝(MTT,Biofroxx,广 州赛国生物科技有限公司);重组人胰岛素 (Solarbio<sup>TM</sup>,北京索莱宝科技有限公司);MEM 培 养基(1×,批号:2044313)、胎牛血清(批号: 2148200RT)、(100×)谷氨酰胺-I、(100×)MEM 非必 需氨基酸溶液均为 Gibco<sup>®</sup>,来自赛默飞世尔科技 中国有限公司;水为超纯水;DOX·HCl(大连美仑 生物技术有限公司,含量:98%;批号:m0420a); TPGS-CR 偶联物为本课题组自制,其大黄酸摩尔 取代度为(5.73±0.23)%,TPGS 摩尔取代度为 (0.28±0.05)%。

## 1.3 细胞株

人乳腺癌 MCF-7 细胞,来自中国科学院干细胞库。

### 2 方法与结果

2.1 DOX 含量测定方法的建立

采用紫外-分光光度法对 DOX/TPGS-CR 胶束 中 DOX 的含量进行测定。

2.1.1 检测波长的确定 分别取 DOX·HCl、 DOX/TPGS-CR 胶束及 TPGS-CR 偶联物适量,用 甲醇溶解,波长在 200~800 nm 内进行扫描,确定 在 502 nm 为 DOX 含量的测定波长,在该波长下 其他各成分对 DOX 测定无干扰,结果见图 1。



A-DOX·HCl; B-DOX/TPGS-CR 胶束; C-TPGS-CR 偶联物。 Fig. 1 UV spectrum A-DOX·HCl; B-DOX/TPGS-CR PMs; C-TPGS-CR conjugate.

**2.1.2** 线性关系考察 精密称取 DOX·HCl 2 mg, 用甲醇定容于 10 mL 量瓶中,得 0.2 mg·mL<sup>-1</sup> DOX 储备液,将此储备液稀释为 15, 20, 25, 30, 35 μg·mL<sup>-1</sup> 系列浓度,以甲醇为空白溶液,在 502 nm 处测定其吸光度(*A*),以*A* 对浓度 *C*(μg·mL<sup>-1</sup>) 进行线性回归,得回归方程为 *A*=0.020 9*C*-0.025 9 (*r*=0.999 7),浓度在 15~35 μg·mL<sup>-1</sup> 内线性关系良好。

2.2 DOX/TPGS-CR 胶束的制备

DOX·HCl 脱盐: 精密称取 12.86 mg DOX·HCl,用0.42 mL DMSO 溶解后,磁力搅拌 下加入三乙胺(DOX·HCl:三乙胺=1:3,摩尔比) 9.52 μL,搅拌过夜,使三乙胺与 DOX·HCl 充分反 应,除去 HCl 形成 DOX,即得脱盐后 30 mg·mL<sup>-1</sup> DOX 的 DMSO 溶液。

采用透析法制备 DOX/TPGS-CR 胶束。称取 TPGS-CR 偶联物 18 mg,加 3 mL 超纯水溶解,冰 水浴超声 10 min,然后磁力搅拌下,将 400 μL DOX 的 DMSO 溶液(30 mg·mL<sup>-1</sup>)缓慢滴加到 TPGS-CR 偶联物溶液中,剧烈搅拌 20 min 后,冰水浴探头 超声 30 min,置透析袋中,蒸馏水为透析介质, 透析 12 h。结束透析后,冰水浴探头超声 20 min, 用 0.8 μm 微孔滤膜过滤,冷冻干燥即得 DOX/TPGS-CR 胶束。

### 2.3 DOX/TPGS-CR 胶束粒径、分布及电位

称取 4 mg DOX/TPGS-CR 胶束,加入 4 mL 蒸馏水,冰水浴探头超声 10 min,0.8 μm 滤膜过 滤,常温下用激光粒度仪测定胶束的粒径及其分 布。平均粒径为(151.3±1.8)nm,PDI 为 0.129±0.020 (*n*=3),粒径<200 nm,且分布均匀,电位为(-26.9± 0.8)mV(*n*=3)。载体材料 TPGS-CR 偶联物胶束的粒 径为(122.80±7.80)nm,电位为(-4.52±3.65)mV。与 载体材料相比较,载药胶束粒径略有增大,其电 位相对值变化较大,载药胶束体系稳定性较好。 2.4 DOX/TPGS-CR 胶束的形态学表征

取适量 DOX/TPGS-CR 胶束溶液,用 2.0%磷 钨酸溶液负染,透射电子显微镜观察,DOX/TPGS-CR 胶束呈球形或类球形,分布较均匀。结果见图 2。



图 2 DOX/TPGS-CR 胶束透射电镜图 Fig. 2 TEM photograph of DOX/TPGS-CR PMs

**2.5** DOX/TPGS-CR 胶束载药量(drug loading capacity, DL)及包封率(entrapment efficiency, EE) 的测定

采用紫外-可见分光光度法测定 DOX/TPGS-CR 胶束的 DL 及其 EE。

精密称取 4 mg DOX/TPGS-CR 胶束, 加 2 mL 纯水冰水浴探头超声溶解, 取 250 μL 用甲醇定容 至 5 mL, 按 "2.1"项下方法测定 DOX 的 *A*,并

中国现代应用药学 2020 年 8 月第 37 卷第 16 期

计算 DOX 的浓度,根据下列公式计算 DOX/ TPGS-CR 胶束的 DL 和 EE。

$$DL(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%$$
$$EE(\%) = \frac{m_1}{m} \times 100\%$$

上式中,  $m_1$ 为载入胶束中 DOX 的质量, m 为 DOX 的投药量,  $m_2$ 为 DOX/TPGS-CR 胶束的质量。

经计算, DOX/TPGS-CR 胶束的 DL 和 EE 分 别为(23.16±0.01)%和(55.00±0.04)%(*n*=3)。

2.6 DOX/TPGS-CR 胶束体外释放研究

采用透析袋法进行 DOX/TPGS-CR 胶束体外释放试验。考察了 DOX/TPGS-CR 胶束在模拟正常人体内环境的 pH 7.4 的 PBS 溶液中释放情况。

以 pH 7.4 的 PBS 溶液为空白,使用紫外分光 光度计在 502 nm 处建立 DOX 的标准曲线。其线 性方程为 *A*=0.017 5*C*-0.002 4(*r*=0.999 8),浓度在 15~40 μg·mL<sup>-1</sup>内线性关系良好。

分别精密称取 DOX·HCl 2.13 mg 和 DOX/ TPGS-CR 胶束 8.63 mg, 分别用 4 mL PBS(pH 7.4) 溶解,取 2 mL 置于透析袋中,以 100 mL PBS(pH 7.4)为释放介质,在恒温振荡水槽中,设置转速 100 r·min<sup>-1</sup>,37 ℃进行体外释放试验。分别于 0.25, 0.5,0.75,1,1.5,2,3,4,6,8,10,12,18, 24,36,48,60 h 取透析袋外释放介质 30 mL,同 时补加 30 mL 同温空白 PBS(pH 7.4)。取出的释放 介质经冷冻干燥后用适量 PBS 复溶,使用紫外分 光光度计测定其中 DOX 的含量,根据下列公式计 算 DOX 的累计释放率。

$$Q_{\text{DOX}}(\%) = \frac{V_0 \sum_{1}^{n-1} C_i + V_1 C_n}{M_{\text{DOX}}} \times 100\%$$

上式中,  $Q_{\text{DOX}}$ 为 DOX 的累计释放率;  $V_0$ 为 每个时间点取出的释放介质的体积,  $V_0=30$  mL;  $C_i$ 为第 i次取样时,释放介质中 DOX 的浓度;  $V_1$ 为释放介质的体积,  $V_1=100$  mL;  $C_n$ 为第 n次取样 时,释放介质中 DOX 的浓度;  $M_{\text{DOX}}$ 为透析袋中 DOX 的总质量(DOX 总质量=载药量×载药胶束的 质量)。

载药胶束在 pH 7.4 的 PBS 溶液中的释放结果 见图 3。DOX·HCl在 PBS(pH 7.4)溶液中释放较快, 在 6 h 时释放>90%, 10 h 时累计释放率开始降低, 推测其可能由 DOX 的光敏感性引起。而 DOX/ TPGS-CR 胶束的释放较慢, 6 h 时累计释放率为 26%, 24 h 累计释放率仅 35%, 而释放 60 h 后, DOX 的释放率也只有 44%。

2.7 DOX/TPGS-CR 胶束对 MCF-7 细胞毒性研究 2.7.1 细胞培养 MCF-7 细胞在 37 ℃, CO<sub>2</sub>(5%) 培养箱中用 MEM 培养基进行培养,该培养基中含 有 10%胎牛血清,1%重组人胰岛素,1%非必需氨 基酸,1%谷氨酰胺。孵育后当细胞汇合度达到 80%~90%时,即可传代培养,每周换液 2~3 次。



图 3 DOX·HCl 和 DOX/TPGS-CR 胶束体外释放曲线 (PBS, pH 7.4)

Fig. 3 In vitro release profile of DOX HCl and DOX/ TPGS-CR PMs(PBS, pH 7.4)

2.7.2 细胞毒试验 通过 MTT 法评估各 DOX 制 剂对 MCF-7 细胞的细胞毒性,并以 DOX·HCl 为 对照。取对数生长期的细胞,以 1×10<sup>5</sup>·mL<sup>-1</sup>的密 度接种在96孔板中,每孔加入细胞悬浮液100 µL, 在培养箱中孵育 48 h 使其贴壁。设置 DOX·HCl 组、DOX/TPGS-CR 胶束组、TPGS-CR 偶联物组(按 DOX/TPGS-CR 胶束中所含 TPGS-CR 偶联物量 计)、空白组和正常组。孵育后将培养基替换成上 述各组受试液,向 96 孔板中各加入 150 µL 含药培 养液或空白培养液, DOX 浓度为 0.01~25 μg·mL<sup>-1</sup> 的 8 种不同浓度,每个浓度平行 6 个孔,以不含 细胞的培养基和 MTT 溶液为空白组,含细胞不给 药物为正常组,外圈加入 PBS 溶液避免边缘效应, 37 ℃, 5%CO2培养箱中孵育。分别于加药后 24, 48,72 h 将培养板取出,去除培养液,每孔加入 0.5 µg·mL<sup>-1</sup> MTT 溶液 100 µL,37 ℃培养箱中继续 孵育4h后取出,小心吸取上清液。每孔加入 DMSO 150 µL 溶解蓝紫色结晶物。最后用酶标仪在 570 mm 处测定吸光度。相对细胞存活率计算如下:

相对细胞存活率 (%)=
$$\frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}} \times 100\%$$

上式中 A<sub>sample</sub> 是含细胞给药组的吸光度, A<sub>control</sub>是用空白培养基处理的细胞的吸光度, A<sub>blank</sub> 是空白培养基组的吸光度。

不同浓度 DOX 制剂及 TPGS-CR 偶联物在 ·1924 · Chin J Mod Appl Pharm, 2020 August, Vol.37 No.16 24, 48, 72 h 时对 MCF-7 细胞的细胞毒作用见图 4, 用 GraphPad Prism 5.0 计算各组制剂的 *IC*<sub>50</sub>。 通过 MTT 试验, TPGS-CR 偶联物浓度在 0.01~ 25 μg·mL<sup>-1</sup> 内, 24, 48 h 时, TPGS-CR 偶联物对 MCF-7 细胞几乎没有表现出毒性作用,体现了 TPGS-CR 偶联物作为载体材料的良好安全性; 而 在 72 h 时, TPGS-CR 偶联物对 MCF-7 有较弱的 杀伤作用。DOX/TPGS-CR 胶束在 24, 48, 72 h 时的 *IC*<sub>50</sub> 值为 8.849, 1.797, 0.444 μg·mL<sup>-1</sup>, DOX·HCl 在 24, 48, 72 h 时的 *IC*<sub>50</sub> 值为 9.115, 1.710, 0.209 μg·mL<sup>-1</sup>, 结果表明 DOX/TPGS-CR 胶束在 24, 48, 72 h 时的 *IC*<sub>50</sub> 值与 DOX·HCl 的



**图 4** DOX 制剂及载体对 MCF-7 细胞的细胞毒作用(*n*=6) A-24 h 细胞毒作用; B-48 h 细胞毒作用; C-72 h 细胞毒作用; DOX/TPGS-CR 胶束与 DOX·HCI 相比, <sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01。

**Fig. 4** Cytotoxicity of DOX preparations in MCF-7 cells(n=6) A-cytotoxicity at 24 h; B-cytotoxicity at 48 h; C-cytotoxicity at 72 h; DOX/TPGS-CR PMs vs DOX·HCl, <sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01.

中国现代应用药学 2020 年 8 月第 37 卷第 16 期

 $IC_{50}$ 值相近,并于 24 h 时略好于 DOX·HCl。浓度 在 0.01~1  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> 内, DOX/TPGS-CR 胶束的细胞 杀伤能力弱于 DOX·HCl,在 1  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>时存在显 著性差异(*P*<0.01)。而 DOX/TPGS-CR 胶束浓度在 5~20  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>内呈现比 DOX·HCl 更强的细胞杀伤 能力,尤其在 48 h 时,其细胞杀伤能力显著强于 DOX·HCl (*P*<0.01)。

3 讨论

本实验以 TPGS-CR 偶联物为载体材料,其 中大黄酸为中药大黄的主要成分,具有抗炎,抗 菌,诱导恶性细胞凋亡的作用,但水溶性差,可 作为聚合物胶束的疏水内核的组成部分<sup>[9-10]</sup>,并 且其与 DOX 具有相似的母核结构,以其作为胶束 内核对 DOX 有较好的相容性;羧甲基壳聚糖具有 良好的水溶性、生物相容性和生物可降解性<sup>[11-12]</sup>; TPGS 是一种水溶性的非离子表面活性剂,其可 逆转 P-gp 介导的多药耐药性,能够增强药物靶向 作用<sup>[13-15]</sup>。以大黄酸、羧甲基壳聚糖及 TPGS 共 同构建的 TPGS-CR 偶联物对 DOX 具有较好的包 载作用,对 DOX 在体内的递送作用、药效学研究 将进一步研究。

本研究建立紫外-可见分光光度法对 DOX 进行含量测定,操作简单方便,干扰少,有利于载 DOX 胶束的 DL 和 EE 的快速测定。

透析法制备的 DOX/TPGS-CR 胶束,粒径<200 nm 且分布均匀,能够有效避免网状内皮系统的清除,预期可通过长循环和 EPR 效应,提高 DOX 在肿瘤部位的积累,能够减少对其他器官的毒副作用。

DOX/TPGS-CR 胶束体外释放试验表明,载药 胶束在正常组织环境中释放缓慢,与 DOX·HCl 的 快速释放形成鲜明对比,载药胶束缓释特征有助 于其减少对机体正常组织的毒副作用。

MCF-7 细胞毒试验表明,72 h 时 TPGS-CR 偶 联物对 MCF-7 细胞有较弱的杀伤作用,可能与 TPGS-CR 偶联物中大黄酸的杀伤肿瘤细胞作用相 关,该杀伤作用较弱,可能与载体材料上大黄酸 的取代度尚未达到强杀伤作用的浓度,也可能是 由于载体材料是大黄酸与羧甲基壳聚糖通过酰胺 键化学偶联在一起,断裂后才起效,但酰胺键断 裂可能需要更久的时间,所以可能更久才能体现 出较好的协同效果。TPGS-CR 偶联物毒性小,适 合作为难溶性药物体内递送载体材料,其对 DOX 的包载避免了 DOX 与正常器官组织的直接接触, 对降低 DOX 对正常器官组织的毒副作用有较好的 意义。DOX/TPGS-CR 胶束在48 h浓度 5~20 μg·mL<sup>-1</sup> 时表现出比 DOX·HCl 更强的肿瘤细胞杀伤作用, 说明在一定浓度范围内, DOX/TPGS-CR 胶束具 有更好的抗肿瘤潜力,可能与其胶束内核的大黄 酸的抗肿瘤作用有关,大黄酸与 DOX 的协同作用 及逆转 DOX 多药耐药性相关实验将进一步研究。

#### REFERENCES

- ZHANG S, LIU X, BAWA-KHALFE T, et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Nat Med, 2012, 18(11): 1639-1642.
- [2] WALLAT J D, HARRISON J K, POKORSKI J K. pH responsive doxorubicin delivery by fluorous polymers for cancer treatment [J]. Mol Pharmaceutics, 2018, 15(8): 2954-2962.
- [3] QIN L, WU L, JIANG S, et al. Multifunctional micelle delivery system for overcoming multidrug resistance of doxorubicin [J]. J Drug Target, 2018, 26(4): 289-295.
- [4] CHEN T, WANG C, LIU Q, et al. Dasatinib reverses the multidrug resistance of breast cancer MCF-7 cells to doxorubicin by downregulating P-gp expression via inhibiting the activation of ERK signaling pathway [J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(1): 106-114.
- [5] ZHANG C G, ZHU W J, LIU Y, et al. Novel polymer micelle mediated co-delivery of doxorubicin and P-glycoprotein siRNA for reversal of multidrug resistance and synergistic tumor therapy [J]. Sci Rep, 2016, 6: 23859.
- [6] WU L, CAO K, NI Z, et al. Rhein reverses doxorubicin resistance in SMMC-7721 liver cancer cells by inhibiting energy metabolism and inducing mitochondrial permeability transition pore opening [J]. Biofactors, 2019, 45(1): 85-96.
- [7] HAN N N, LI X, TAO L, et al. Doxorubicin and Rhein loaded nanomicelles attenuates multidrug resistance in human ovarian cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(1): 178-185.
- [8] WU L, LIU X, CAO K X, et al. Synergistic antitumor effects of Rhein and doxorubicin in hepatocellular carcinoma cells [J]. J Cell Biochem, 2020, 121(10): 4009-4021.
- [9] KORAMAGAZI A, WANG D, YOUSEF B, et al. Rhein triggers apoptosis via induction of endoplasmic Reticulum stress, caspase-4 and intracellular calcium in primary human hepatic HL-7702 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(1): 230-236.
- [10] WANG X Y, GUO Y L, QIU L Z, et al. Preparation and evaluation of carboxymethyl chitosan-Rhein polymeric micelles with synergistic antitumor effect for oral delivery of paclitaxel [J]. Carbohydr Polym, 2019(206): 121-131.
- [11] JENA S K, SANGAMWAR A T. Polymeric micelles of amphiphilic graft copolymer of α-tocopherol succinate-gcarboxymethyl chitosan for tamoxifen delivery: Synthesis, characterization and *in vivo* pharmacokinetic study [J]. Carbohydr Polym, 2016(151): 1162-1174.
- [12] DAI Y X, WANG S, SHI W B, et al. pH-responsive carboxymethyl chitosan-derived micelles as apatinib carriers for effective anti-angiogenesis activity: Preparation and *in vitro* evaluation [J]. Carbohydr Polym, 2017(176): 107-116.
- [13] CHOUDHURY H, GORAIN B, PANDEY M, et al. Recent advances in TPGS-based nanoparticles of docetaxel for improved chemotherapy [J]. Int J Pharm, 2017, 529(1/2): 506-522.
- [14] GUO Y, LUO J, TAN S, et al. The applications of vitamin E TPGS in drug delivery [J]. Eur J Pharm Sci, 2013, 49(2): 175-186.
- [15] DONG K, YAN Y, WANG P, et al. Biodegradable mixed MPEG-SS-2SA/TPGS micelles for triggered intracellular release of paclitaxel and reversing multidrug resistance [J]. 2016(11): 5109-5123.

收稿日期: 2019-08-29 (本文责编:蔡珊珊)

中国现代应用药学 2020 年 8 月第 37 卷第 16 期