

聚合多巴胺改性紫杉醇纳米粒靶向治疗乳腺癌骨转移

赵磊^{1,2}, 毕冬冬², 齐晓宇^{2,3}, 季宇彬¹, 王向涛², 韩美华^{2*}

1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

3. 黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: 目的 基于多巴胺衍生物的粘附性, 构建表面改性的紫杉醇 (PTX) 纳米粒, 连接阿伦磷酸钠 (ALN), 对构建的新型纳米粒进行表征并考察其对鼠源性乳腺癌 4T1 细胞的毒性作用。方法 采用溶剂沉淀法制备 PTX 纳米粒, 将纳米粒放置于 0.5 mg/mL 的盐酸多巴胺 Tris 缓冲盐溶液中, 在表面形成聚合多巴胺 (PDA), 随后与亲骨性药物 ALN 结合, 得到新型 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒。ZS 型电位仪测定纳米粒的粒径、粒度分布和表面电位; 透射电镜观察形态; 考察其不同介质中的稳定性、溶血性; 考察 ALN 用量及钙离子存在条件对新型纳米粒吸附羟基磷灰石 [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, HA] 的影响; 研究其体外抗 4T1 乳腺癌细胞活性。结果 成功制得 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒, 棒状, 粒径为 (178.5±2.3) nm, 分散指数 (PDI) 值为 0.213±0.06, Zeta 电位为 (20.12±2.45) mV; 在 5% 葡萄糖、0.9% 生理盐水、血浆中基本稳定; 无溶血现象; 随着 ALN 用量增加, 新型纳米粒对 HA 吸附率增大, 可达 48.63%, 游离钙离子降低其对 HA 的吸附能力; MTT 结果显示, 其对 4T1 乳腺癌细胞发挥显著抑制作用。结论 制备的 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒粒度分布均匀、稳定性良好、不溶血; 通过 ALN 与 HA 上的钙离子相结合, 亲骨性良好; 对 4T1 细胞发挥毒性作用。

关键词: 紫杉醇; 纳米粒; 阿伦磷酸钠; 聚合多巴胺; 4T1 乳腺癌细胞; 亲骨性

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)12-1695-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.12.004

Treatment of bone metastasis of breast cancer with polydopamine modified paclitaxel nanoparticles

ZHAO Lei¹, BI Dong-dong², QI Xiao-yu^{2,3}, JI Yu-bin¹, WANG Xiang-tao², HAN Mei-hua²

1. Life Sciences and Environmental Sciences Center, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Peking Union Medical College, Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Beijing 100193, China

3. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective Based on the adhesion of dopamine derivatives, the surface modified paclitaxel (PTX) nanoparticles were constructed and connected with Allen sodium phosphate (ALN). The new nanoparticles were characterized and the toxic effects on 4T1 cells were observed. **Methods** PTX nanoparticles were prepared by solvent precipitation method. The nanoparticles were placed in 0.5 mg/mL dopamine hydrochloride Tris buffer salt solution to form polymeric dopamine (PDA) on the surface, and then combined with the pro osseous drug ALN to obtain novel PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles. Dynamic light scattering and transmission electron microscopy were used to investigate the size and morphology of the new nanoparticle. The stability and hemolysis in different medium were studied. Investigated the effect of ALN dosage and calcium ion condition on the adsorption of novel nanoparticles on hydroxyapatite [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, HA] and studied its antitumor activity on 4T1 breast cancer *in vitro*. **Results** Successfully prepared PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles, rod diameter (178.5 ± 2.3) nm, Zeta potential (-20.12 ± 2.45) mV, basically stable in 5% glucose, 0.9% saline and plasma, and no hemolysis. *In vitro* experiment results showed that, with the increase of ALN dosage, the adsorption rate of the new nanoparticles on HA increased, up to 48.63%, and the free calcium ions reduced the adsorption capacity; *In vitro* cytotoxicity assay (MTT) results showed that, PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN

收稿日期: 2017-07-15

作者简介: 赵磊, 研究方向为抗肿瘤。E-mail: 1490676732@qq.com Tel: 15712919409

*通信作者 韩美华, 研究方向为新型靶向纳米粒的构建及应用。E-mail: 383865259@qq.com Tel: 13366389197

nanoparticles had a significant inhibitory effect on 4T1 breast cancer cells. **Conclusion** The prepared PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles have uniform particle size distribution, good stability and did not cause hemolysis; Moreover, they have good affinity to bone through ALN and calcium ions on HA, and play a toxic role in 4T1 cells.

Key Words: paclitaxel; nanoparticles; alendronate; polymeric dopamine; 4T1 breast cancer; bone affinity

骨转移的最常见恶性肿瘤是乳腺癌, 骨转移率可达 65%~75%。紫杉醇 (Paclitaxel, PTX) 对多种实体瘤有显著抑制活性, 包括乳腺癌、晚期卵巢癌、肺癌、头颈癌和急性白血病^[1-4]。但因水溶性差、生物利用度低等特点, 极大地限制了 PTX 在临床上的应用。本文开创性地采用溶剂沉淀法制备出了可以提高载药量、增加药物吸收速度和吸收率、提高生物利用度的 PTX 纳米粒^[5-8], 同时以多巴胺为表面修饰材料, 通过席夫碱反应, 简单高效地连接亲骨性药物阿伦磷酸钠 (ALN)^[9-10], 克服了一般化学合成反应复杂、低效以及改性的载体可能失去对药物的封装能力等问题; 并考察其对鼠源性乳腺癌 4T1 细胞的毒性作用。

1 材料

1.1 仪器

KQ3200DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Zetasizer nano ZS 型粒度仪 (英国 Malvern Instruments 公司); UltiMate 3 000 高效液相色谱仪 (美国 DIONEX 仪器公司); JEM-1200-EX 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); Hel-VAP 旋转蒸发仪 (Heidolph 公司); Biotek 酶联免疫检测仪 (美国伯腾仪器公司); PURELAB Classic 综合纯水仪 (英国 ELGA 公司); RJ-TGL-16C 型高速台式离心机 (无锡市瑞江分析仪器有限公司); Meppler Toledo AL204 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); SHA-B 水浴恒温振荡器 (金坛国旺实验仪器厂); 96 孔无菌培养板 (美国 Corning 公司)。

1.2 药物及主要试剂

PTX (批号 20160614, 规格 2 g, 北京偶合科技有限公司); PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀ (济南岱罡生物技术有限公司); ALN (批号 2016110402, 规格 2 g, 湖北武汉大华伟业医药化工有限公司); 盐酸多巴胺 (批号 20160400, 规格 5 g, 北京银河天虹化工有限公司); 乙腈 (批号 A3889, Fisher 公司, 色谱纯); 其他试剂均为分析纯。

RPMI1640 培养基 (美国 Hyclone 公司); 胎牛血清、青霉素和链霉素双抗 (美国 Gibco 公司); 磷酸缓冲液 (PBS, 批号 AAL208993)。

1.3 细胞

鼠源乳腺癌 4T1 细胞株, 来源于北京协和医学院基础所细胞中心。

2 方法

2.1 纳米粒的制备及表征

2.1.1 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒的制备 将 10 mg PTX 和 10 mg PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀ 分别溶于 200 μ L 丙酮溶液中, 并超声滴注于 10 mL 水中。37 $^{\circ}$ C 水浴旋蒸 3 min 至不再产生气泡为止, 以去除有机溶剂丙酮。将去除丙酮后的混悬液加入到 5 mL 离心管中, 14 000 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀 (即合成的纳米粒) 加入 5 mL 含有 0.5 mg/mL 盐酸多巴胺的 Tris (pH 8.8) 缓冲盐溶液中, 搅拌 3 h 以形成聚合多巴胺 (PDA) 修饰的纳米粒。将混悬液于 14 000 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀加入 5 mL 含有 1 mg/mL ALN 水溶液中, 搅拌反应 5 h。将混悬液再次于 14 000 r/min 离心 15 min, 最后将沉淀分散于 5 mL 去离子水中, 最终得到含有 ALN 的 PDA 修饰的 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒。

2.1.2 粒径测定及 TEM 观察 制备的 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 用 Zetasizer nano ZS 型电位仪测定纳米粒的粒径、粒度分布和表面电位。将 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀、PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA、PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN (1 mg/mL) 用去离子水稀释到质量浓度为 0.10 mg/mL, 取 6 μ L 滴到 300 目的铜网上, 静置 5 min, 滤纸吸干液体, 室温静置 10 min 后, 滴加 6 μ L 1% 醋酸铀染色 90 s 后滤纸吸干液体, 室温下自然晾干, 透射电镜 (TEM) 下观察纳米粒子的形态和大小。

2.2 不同介质稳定性考察

配制 1.8% 的氯化钠溶液、2 \times 磷酸缓冲液 (PBS 溶液, pH 7.4)、10% 的葡萄糖溶液、血浆, 各取 0.5 mL 加入等体积的 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒混匀, 得到等渗的 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 的 PBS、0.9% 氯化钠、5% 葡萄糖, 血浆悬浮液。37.0 $^{\circ}$ C 恒温孵育, 分别在 0、1、3、5 h 取样, Zetasizer nano ZS 型粒度仪测定粒径并记录其粒径变化情况。

2.3 溶血性考察

分别取不同质量浓度(1.000 0、0.500 0、0.250 0、0.125 0、0.062 5 mg/mL) PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒的生理盐水等渗液 500 μL 与 500 μL 红细胞悬浮液(红细胞浓度为 4%)混合后 37 °C 孵育 4 h, 5 000 r/min 离心 5 min, 取上清 150 μL 于 96 孔板中, 用酶标仪在 540 nm 测吸光度(A)值, 每个浓度平行 3 份, 以生理盐水为阴性对照, 以蒸馏水为阳性对照。计算溶血率。

$$\text{溶血率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{阴性对照}}) / (A_{\text{阳性对照}} - A_{\text{阴性对照}})$$

2.4 ALN 用量对新型纳米粒吸附羟基磷灰石 [(Ca₁₀PO₄)₆(OH)₂, HA] 的影响

将 10 mg PTX 和 10 mg PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀ 分别溶于 200 μL 丙酮溶液中, 并超声滴注于 10 mL 水中。37 °C 水浴旋蒸 3 min 至不再产生气泡为止, 以去除有机溶剂丙酮。将去除丙酮后的混悬液加入到 5 mL 离心管中, 14 000 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀(即合成的纳米粒)加入到含有 3 mg 盐酸多巴胺的 6 mL Tris (pH 8.8) 缓冲盐溶液中, 搅拌 3 h 以形成 PDA 修饰的纳米粒。将混悬液于 14 000 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀分别加入到 15 mL 含有 10、20、30 mg ALN 的去离子水中, 搅拌反应 5 h。14 000 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀分别分散于 5 mL 的去离子水中, 5 000 r/min 离心 10 min, 采用酶标仪于波长 227 nm 处测定混悬液的 A_{吸附前}值; 然后分别加入 50 mg 的 HA 搅拌, 在 15、30 和 60 min 3 个时间点, 5 000 r/min 离心 10 min, 分别吸取上清液, 酶标仪于波长 227 nm 处测定 A_{吸附后}, 计算吸附率。

$$\text{吸附率} = (A_{\text{吸附前}} - A_{\text{吸附后}}) / A_{\text{吸附前}}$$

2.5 钙离子存在条件下对纳米粒吸附 HA 的影响

将 10 mg PTX 和 10 mg PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀ 分别溶于 200 μL 丙酮溶液中, 并超声滴注于 10 mL 水中。37 °C 水浴旋蒸 3 min 至不再产生气泡为止, 将去除丙酮后的混悬液加入到 5 mL 离心管中, 14 000 r/min, 离心 15 min 中, 去除上清液。将沉淀(即合成的纳米粒)加入到含有 3 mg 盐酸多巴胺的 6 mL Tris (pH 8.8) 缓冲盐溶液中, 搅拌 3 h 以形成 PDA 修饰的纳米粒。1400 0 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀加入到 15 mL 含有 30 mg ALN 的去离子水中(同时设置无 ALN 对照组, 将沉淀加入到不含 ALN 的去离子水中), 搅拌反应 5 h。14 000 r/min 离心 15 min, 去除上清液。将沉淀分散于 9 mL 的

去离子水中, 采用酶标仪于波长 227 nm 处测定混悬液的 A_{吸附前}值, 记录数据。然后各取 3 mL 分别加入 50 mg 的不同钙浓度的 HA (提前用浓度分别为 2.5 和 5.0 mmol/L 的氯化钙溶液浸泡), 搅拌 30 min, 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 酶标仪于 227 nm 处测定 A_{吸附后}值。

$$\text{吸附率} = (A_{\text{吸附前}} - A_{\text{吸附后}}) / A_{\text{吸附前}}$$

2.6 体外细胞毒实验

培养 4T1 细胞至对数期, 8 000/孔铺 96 孔板, 24 h 后给药, PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 及 PTX 用不含胎牛血清的培养基稀释至 100.0、75.0、50.0、25.0、10.0、5.0、2.5、1.0、0.1 μg/mL (以 PTX 质量计), 对照组不加药, 于 24、48、72 h 后加入 MTT, 20 μL/孔, 4 h 后弃上清, 加入 DMSO 溶液, 200 μL/孔, 摇床上震荡 15 min, 用酶标仪 570 nm 波长处测 A 值, 计算细胞活性抑制率和半数抑制浓度(IC₅₀)值。

$$\text{细胞活性抑制率} = (A_{\text{对照平均值}} - A_{\text{药物}}) / A_{\text{对照平均值}}$$

3 结果

3.1 纳米粒的粒径测定

如图 1 所示, PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒的平均粒径为 (178.5 ± 2.3) nm, 分散指数(PDI)值为 0.213 ± 0.06, 电位值为 (20.12 ± 2.45) mV, 包覆 PDA 的纳米粒呈现黑色。

3.2 纳米粒的 TEM 观察结果

如图 2 所示, PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒近似棒状, 分布较均匀。包覆多巴胺前后, 形态

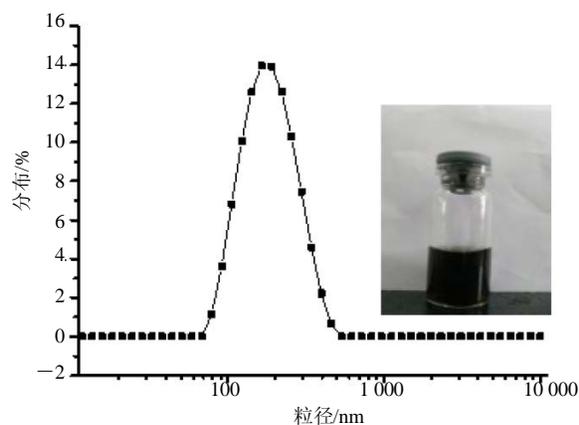


图 1 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒的粒径分布 (n = 3)

Fig. 1 Particle size distribution of PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles (n = 3)

和粒径均没有明显变化。

3.3 纳米粒不同介质稳定性考察结果

PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒在 0.9% 生理盐水、5% 葡萄糖溶液、血浆中稳定性良好，没

有出现浑浊或沉淀现象，粒径大小稳定，随着时间的延长无明显变化；在 PBS 溶液中随着时间的延长粒径增大，具体原因有待进一步研究。说明 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒适合 iv 给药。结果见表 1。

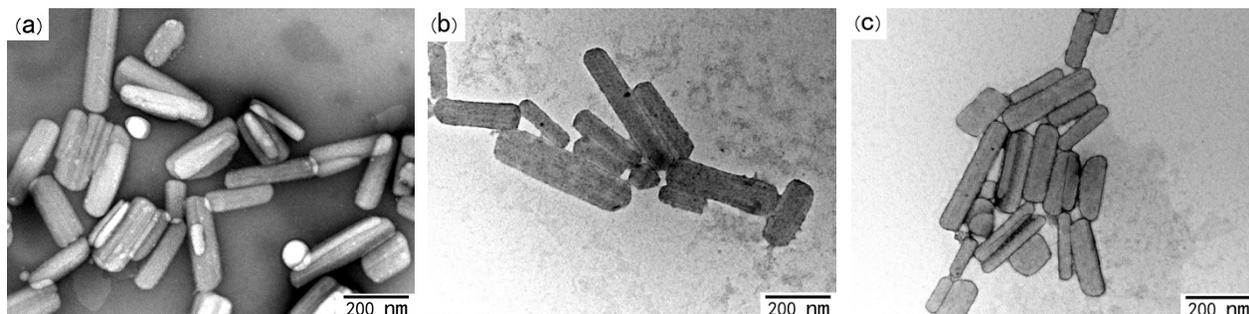


图 2 透射电镜图片：PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀ 纳米粒 (a)；PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA 纳米粒 (b)；PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒 (c)

Fig. 2 Transmission electron microscope images of PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀ (a), PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA (b) and PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN (c)

表 1 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒在 0.9% 生理盐水、PBS 溶液、5% 葡萄糖溶液、血浆中的稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Particle size stability of PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles in NaCl, PBS, 5% Glucose solution, and plasma ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

介质	粒径/nm			
	孵育 0 h	孵育 1 h	孵育 3 h	孵育 5 h
0.9% 生理盐水	215.3±1.7	233.6±1.6	257.8±2.8	277.6±2.1
PBS 溶液	226.0±2.3	876.5±4.7	1 248.6±3.7	1 324.0±1.5
5% 葡萄糖溶液	231.2±3.2	244.3±1.9	258.7±1.3	266.5±1.8
血浆	232.6±1.6	248.6±2.6	288.5±2.9	366.8±2.7

3.4 纳米粒溶血性考察结果

如图 3 所示，PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒质量浓度在 0.062 5~1.000 0 mg/mL 时，溶血率均为负值，小于 5%^[11]。表明 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒不溶血，适合 iv 给药。

3.5 ALN 用量对 HA 吸附的影响

HA 是骨组织主要成分，其血流量低、密度大、渗透性差，普通给药方式难以使药物转运至病灶部位，因此，选择与 HA 有特异性亲和力的分子 ALN 作为骨靶向配体，并探索 ALN 用量对 HA 吸附的影响。结果如图 4 所示，与 HA 吸附时间的长短以及 ALN 用量不同，会导致 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒对 HA 吸附率不同，随着 ALN 用量增加，对 HA 吸附率增大；时间在 30 min 左右、ALN 用量为 30 mg 时，对 HA 吸附率可达 48.63%。

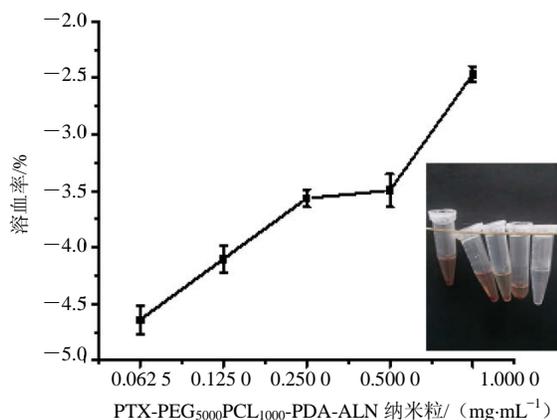


图 3 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒的溶血率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Hemolysis of PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

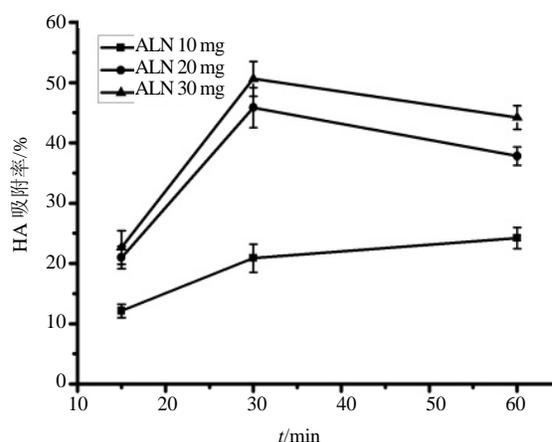
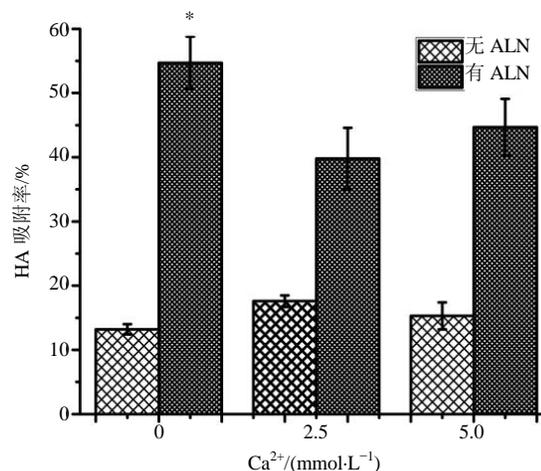


图4 时间及ALN质量对于羟基磷灰石吸附率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of time and amount of ALN on hydroxyapatite adsorption ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.6 钙离子存在条件下对HA吸附的影响

为了进一步探究新型纳米粒亲骨性的作用机制,进行了钙离子存在条件下对HA吸附的影响实验,结果如图5所示,随着Ca²⁺浓度增高,ALN对HA的吸附率降低,原因可能是PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN纳米粒上的ALN与游离Ca²⁺相结合,降低了对HA的吸附能力,表明新型纳米粒亲骨性的作用机制主要是:靶向分子ALN与HA上的Ca²⁺结合。



与无ALN对照组比较: *P<0.05
*P < 0.05 vs no ALN control group

图5 钙离子浓度对羟基磷灰石吸附率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 5 Effect of calcium ion concentration on hydroxyapatite adsorption ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.7 外细胞毒实验结果

如图6所示,PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀、PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN及PTX对4T1细胞均有显著毒性作用,显著抑制细胞活性;从IC₅₀值(表2)来看,PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN纳米粒对4T1细胞抑制作用最强。表明PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN纳米粒有较好抗肿瘤效果,可以继续进行治疗体内靶向治疗乳腺转移到骨的相关研究。

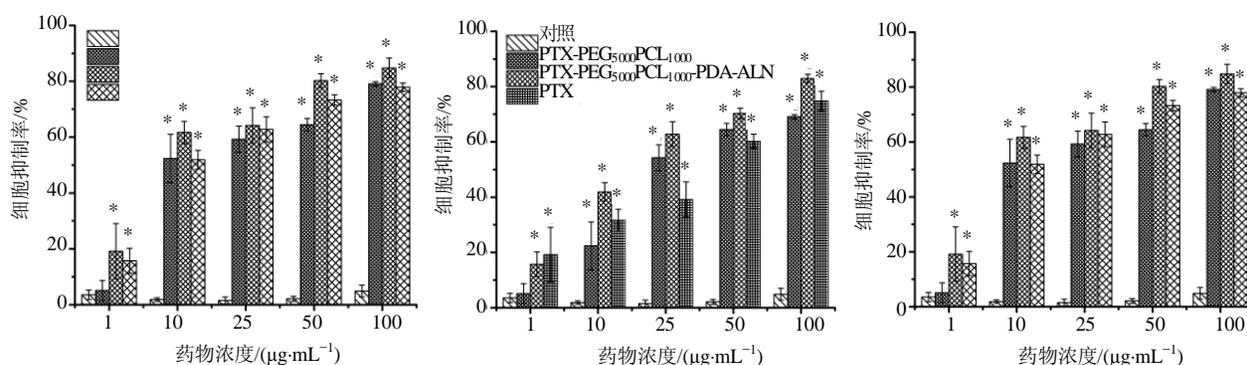


图6 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀、PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN纳米粒及PTX作用24 h (a)、48 h (b)、72 h (c)对4T1细胞的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 Effect of PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀, PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanosuspensions and PTX on 4T1 cell viability after treatment for 24 (a), 48 (b) and 72h (c) ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

PTX是一种广谱抗肿瘤药物,溶解性较差,口服生物利用度较低,本实验针对这一缺点成功制备了PTX纳米粒,并采用新型表面修饰材料PDA,

通过席夫碱反应,简单高效地连接亲骨性药物ALN,成功制备出新型纳米粒PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN。此纳米粒呈棒状,分布较均匀,在生理盐水、葡萄糖、血浆中较稳定性,红细胞膜毒性考察无溶

表2 PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 纳米粒等对 4T1 细胞的 IC₅₀ 值 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 IC₅₀ value of PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN nanoparticles in 4T1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	IC ₅₀ /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
	作用 24 h	作用 48 h	作用 72 h
PTX-PEG ₅₀₀₀ PCL ₁₀₀₀	14.22±2.71	9.39±1.21	9.49±2.13
PTX-PEG ₅₀₀₀ PCL ₁₀₀₀ -PDA-ALN	10.22±2.71	6.43±2.8	6.88±1.45
PTX	13.48±2.23	7.13±0.16	12.74±1.82

血现象, 适于静脉注射给药。体外 HA 吸附实验和钙离子存在条件下 HA 吸附实验结果表明: 新型纳米粒有一定的亲骨性, 作用机制可能是新型纳米粒上的 ALN 与 HA 上的钙离子相结合, 从而产生靶向到骨的作用。体外细胞毒实验表明, PTX-PEG₅₀₀₀PCL₁₀₀₀-PDA-ALN 对 4T1 细胞活性发挥显著抑制作用, 可以进行靶向治疗乳腺转移到骨的体内相关研究。但是一般靶向治疗骨转移癌, 要求纳米粒子粒径较小, 有待进一步实验探索。

参考文献

- [1] Ishitobi M, Shin E, Kikkawa N. Metastatic breast cancer very in cancer chemoth fully treated with weakly paclitaxel [J]. Int J Clin Oncol, 2001, 6(1): 55-58.
- [2] Thigpen J T. Chemotherapy for advanced ovarian cancer: overview of randomized trials [J]. Semin Oncol, 2000, 27(3): 11-16.
- [3] Chang A Y, Rubins J, Asbury R, et al. Weekly paclitaxel in advanced non-small cell lung cancer [J]. Semin Oncol, 2001, 28(4): 10-13.
- [4] Spencer C M, Faulds D. Paclitaxel—a review of its pharma codynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the treatment of cancer [J]. Drugs, 1994, 48(5): 794-847
- [5] Panchagnula R. Pharmaceutical aspects of paclitaxel [J]. Int J Pharm, 1998, 172 (1-2): 1-15.
- [6] Ping L, Liang S, Zhou D S, et al. Development of alendronate-conjugated poly (lactic-co-glycolic acid)-dextran nanoparticles for active targeting of cisplatin in o.steosarcoma [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 17387- 17398.
- [7] Cohen H, Alferiev I S, Monkkonen J, et al. Golomb, Synthesis and preclinical pharmacology of 2-(2-aminopyrimidinio) ethylidene-1,1-bisphosphonic acid betaine (ISA-13-1)—a novel bisphosphonate [J]. Pharm Res, 1999, 16: 1399-1406.
- [8] Rodan G A. Mechanisms of action of bisphosphonates [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1998, 38: 375-388.
- [9] Danenberg H D, Golomb G, Groothuis A, et al. Liposomal alendronate inhibits systemic innate immunity and reduces in-stent neointimal hyperplasia in rabbits [J]. Circulation, 2003, 108(22): 2798-2804.
- [10] Danenberg H D, Fishbein I, Epstein H, et al. Systemic depletion of macrophages by liposomal bisphosphonates reduces neointimal formation following balloon-injury in the rat carotid artery [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2003, 42: 671-679.
- [11] 蔡伟惠, 姚成丽, 居敏俐, 等. 丙泊酚纳米注射液溶血磷脂的含量测定及溶血性评价 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(3): 212-215.