

负载 α -常春藤皂苷聚合物胶束的制备与体内外评价

王慧弟¹, 张金坤², 郭进³

1. 武汉中西医结合骨科医院(武汉体育学院附属医院) 药学部, 湖北 武汉 430070

2. 宜昌市中心人民医院 药学部, 湖北 宜昌 443008

3. 十堰市中医医院 药剂科, 湖北 十堰 442012

摘要: 目的 制备 α -常春藤皂苷(α -Hed)聚合物胶束(α -Hed-PMs), 并评价其对HepG2细胞的抑制效果。方法 以Pluronic F127和TPGS作为载体材料, 采用溶剂蒸发-薄膜水化分散法将 α -Hed制备成 α -Hed-PMs, 通过对粒径分布、Zeta电位和包封率进行综合评估确定 α -Hed-PMs的处方组成; 测定 α -Hed-PMs的临界胶束浓度; 在透射电镜下观察 α -Hed-PMs的微观形貌; 通过差示扫描量热法(DSC)判断 α -Hed在胶束中的存在状态; 考察 α -Hed-PMs在pH 5.0、6.0、7.4缓冲液中的稀释稳定性及释药速率; 比较 α -Hed原料药和 α -Hed-PMs(4、8、16、32、64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对HepG2细胞的体外抑制作用; 制备HepG2细胞荷瘤小鼠, 考察股静脉注射0.9%氯化钠溶液(对照组)、 α -Hed和 α -Hed-PMs(给药剂量均为30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对肿瘤体积的影响。结果 α -Hed-PMs的最优处方组成: Pluronic F127和TPGS质量比为6:1, 所形成的聚合物胶束临界胶束浓度为0.031 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 在透射电镜下可观察到 α -Hed-PMs呈类球形分布; DSC测定结果显示 α -Hed在胶束中以非结晶形式存在; α -Hed-PMs经pH 5.0、6.0、7.4缓冲液稀释后, 在24 h内均未出现絮凝或沉淀, 粒径也基本未发生改变; α -Hed原料药4 h基本释放完全, α -Hed-PMs在不同pH值缓冲液中均为前期药物释放较快, 后期药物释放平缓, 在50 h基本释放完全; 体内外实验结果显示 α -Hed-PMs对HepG2细胞的抑制作用均优于 α -Hed原料药。结论 以Pluronic F127和TPGS作为载体材料将 α -Hed制备成 α -Hed-PMs, 可达到更好的抗肿瘤效果。

关键词: α -常春藤皂苷; 聚合物胶束; 临界胶束浓度; 抑瘤效果; HepG2细胞

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2024)01-0123-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.01.015

Preparation and evaluation *in vitro* and *in vivo* of α -hederin-loaded polymer micelles

WANG Huidi¹, ZHANG Jinkun², GUO Jin³

1. Department of Pharmacy, Wuhan Orthopaedic Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine (Affiliated Hospital of Wuhan Sports University), Wuhan 430070, China

2. Department of Pharmacy, Yichang Central People's Hospital, Yichang 443008, China

3. Department of Pharmacy, Traditional Chinese Medicine Hospital of Shiyan City, Shiyan 442012, China

Abstract: **Objective** To prepare α -hederin-loaded polymer micelles (α -Hed-PMs) and evaluate its inhibition effect on HepG2 cells. **Methods** The α -Hed-PMs were prepared by solvent evaporation-thin film hydration dispersion method using Pluronic F127 and TPGS as carrier materials. The formulation composition of α -Hed-PMs was determined by comprehensive evaluation of particle size distribution, Zeta potential and encapsulation efficiency. The critical micelle concentration of polymer micelles was determined. The microstructure of α -Hed-PMs was observed under transmission electron microscope. The presence status of α -Hed in micelles was determined by DSC. The stability and drug release rate of α -Hed-PMs in medium solution with different pH values (5.0, 6.0 and 7.4) were investigated. The inhibition effect of α -Hed and α -Hed-PMs (4, 8, 16, 32, and 64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) were compared *in vitro* and *in vivo*. HepG2 tumor bearing mice were prepared, and the effects of 0.9% sodium chloride solution (control group), α -Hed and α -Hed-PMs (dose of 30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) on tumor volume were investigated. **Results** The optimal composition of α -Hed-PMs was as follows: the mass ratio of Pluronic F127 to TPGS was 6:1. The critical micelle concentration was 0.031 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. The spherical distribution of α -Hed-PMs could be observed under transmission electron microscope. The results of DSC showed that α -Hed existed in amorphous form in micelles. After dilution with pH 5.0, 6.0, and 7.4 buffer solutions, α -Hed PMs showed no flocculation or precipitation within 24

收稿日期: 2023-07-11

第一作者: 王慧弟(1990.07—),女,本科,主管药师,主要从事医院中药制剂研究。E-mail: wanghuidi1990@163.com

hours, and their particle size remained largely unchanged. The α -Hed raw material was basically completely released within four hours, the drug release rate of α -Hed-PMs in different pH values was faster in the early stage and gentle in the late stage, with almost complete release after 50 hours. The results of *in vivo* and *in vitro* showed that α -Hed-PMs had better inhibitory effect on HepG2 cells than α -hederin. **Conclusion** In this study, α -Hed was prepared into polymer micelles using Pluronic F127 and TPGS as carrier materials, which could achieve better anti-tumor effect.

Key words: α -hederin; polymer micelles; critical micelle concentration; tumor inhibition effect; HepG2 cell

α -常春藤皂苷(α -Hed)是从毛茛科草本植物白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel 中提取得到的一种皂苷类化合物^[1],具有保肝、抗炎、解痉、抗真菌等多种生物活性^[2]。近年来随着药理学不断的深入研究发现, α -Hed 对肝癌^[3]、肠癌^[4]、胃癌^[5]、乳腺癌^[6]、黑色素瘤^[7]等多种肿瘤细胞产生抑制肿瘤细胞增殖和(或)诱导肿瘤细胞凋亡作用^[3]。然而, α -Hed 水溶性差(溶解度仅为 $11 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、生物利用度低^[8],在临床上未获得理想的治疗效果,因此需要通过制剂技术改善 α -Hed 的溶解性^[9-11],增强药物治疗效果。聚合物胶束(PMs)是指将一种或者多种两亲性聚合物溶解在水中后会自发形成亲水端向外、疏水端向内的“核-壳”结构的高分子聚集体^[12]。难溶性药物被包裹在 PMs 内部,可以提高其溶解性,延长药物在体内滞留时间,提高生物利用度^[13];此外,PMs 粒径较小,可以靶向肿瘤部位,从而提高药物疗效和降低毒性^[14]。聚氧乙烯聚氧丙稀醚(Pluronic F127)和聚乙二醇 1 000 维生素 E 琥珀酸酯(TPGS)均是经过美国食品药品监督管理局(FDA)批准的两亲性嵌段共聚物,生物相容性良好,在体内可生物降解,作为胶束载体材料已被广泛应用^[15]。因此,本研究以 Pluronic F127 和 TPGS 作为载体材料,将 α -Hed 制备成 PMs(α -Hed-PMs),并通过药动学与体内外抑瘤效果进行评价,为肿瘤治疗提供更多选择。

1 材料

1.1 主要仪器

RE-201 小型旋转蒸发器(郑州予辉仪器设备有限公司);Zetasizer Nano ZS 90 型动态光散射仪(英国马尔文公司);JEM-2100 型透射电子显微镜(日本电子株式会社)。

1.2 试剂

α -Hed 原料药(南京春秋生物工程有限公司,质量分数 98.0%,批号 T20220915);Pluronic F127、TPGS(德国巴斯夫公司);三氯甲烷(百灵威化学试剂公司)。

2 方法与结果

2.1 α -Hed-PMs 的制备

采用溶剂蒸发-薄膜水化分散法^[16]制备 α -Hed-

PMs。制备工艺如下:按照一定质量比例称取 Pluronic F127 和 TPGS 加入到体积为 250 mL 的茄形瓶中,再按照 Pluronic F127 和 TPGS 总质量的 10% 称取 α -Hed 加入到上述茄形瓶中,最后向茄形瓶中加入 20 mL 三氯甲烷,超声至完全溶解,形成透明溶液;将茄形瓶安装到旋转蒸发器上,在 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下减压旋蒸有机溶剂,最终在瓶内壁形成一层薄膜;取下茄形瓶放入到真空烘箱中过夜,进一步去除残留溶剂;向茄形瓶中加入 50 mL 蒸馏水,并进行磁力搅拌 20 min,薄膜得到充分水化,形成淡蓝色溶液;溶液经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,去除未包载药物,即得到 α -Hed-PMs。使用相同的工艺制备不含 α -Hed 的空白 PMs。

2.2 α -Hed-PMs 处方筛选

2.2.1 粒径分布与 Zeta 电位测定 移取 α -Hed-PMs 0.1 mL 加入到聚苯乙烯样品池中,再加入蒸馏水 0.9 mL,摇匀,放置在 Zetasizer Nano ZS 90 型动态光散射仪样品槽中,采用动态光散射法测定 α -Hed-PMs 的粒径分布;另移取 α -Hed-PMs 1.0 mL 加入到 Zeta 电位样品池中,采用电泳光散射法测定 α -Hed-PMs 的 Zeta 电位。每份样品均测量 3 次,取平均值。

2.2.2 包封率测定 移取 α -Hed-PMs 溶液 1.0 mL 至 25 mL 量瓶中,加入少量乙腈,在超声波浴中进行超声处理,破坏胶束结构,加流动相定容,经 HPLC 法[色谱柱:Cosmosil C₁₈ 柱($150\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);流动相:乙腈-水-磷酸($42:58:0.1$);体积流量 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长 203 nm ;柱温 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$;进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$]检测药物含量^[11],根据公式计算包封率。每份样品测量 3 次,取平均值。

$$\text{包封率} = \frac{W_{\text{胶束}}}{W_{\text{投药量}}}$$

 $W_{\text{胶束}}$ 表示包裹在胶束中的药物质量; $W_{\text{投药量}}$ 表示投药量

2.2.3 处方筛选 PMs 粒径分布和 Zeta 电位对制剂的稳定性及体内分布起到关键性作用,包封率则反映了药物包载程度,粒径分布、Zeta 电位和包封率已成为评价 PMs 制剂性质的重要指标^[17]。因此,本研究选择不同质量比的 Pluronic F127 和 TPGS(α -Hed 的加入量均为 Pluronic F127 和 TPGS

总质量的10%)制备 α -Hed-PMs,考察其对粒径分布、Zeta电位和包封率产生的影响,结果见表1。

实验结果显示,Pluronic F127和TPGS质量比由1:1提高至8:1, α -Hed-PMs的Zeta电位基本恒

定,但对粒径分布和包封率影响较大,Pluronic F127和TPGS质量比提高至6:1时,粒径较小,包封率达到最大值。因此,本研究确定 α -Hed-PMs的处方中Pluronic F127和TPGS的质量比为6:1。

表1 Pluronic F127和TPGS质量比对 α -Hed-PMs制剂性质的影响结果($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Effect of mass ratio between Pluronic F127 and TPGS on properties of α -Hed-PMs ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Pluronic F127和TPGS质量比	粒径分布/nm	Zeta电位/mV	包封率/%
1:1	236.2 $\pm$ 13.6	3.58 $\pm$ 0.04	86.2 $\pm$ 1.4
2:1	216.6 $\pm$ 12.7	3.25 $\pm$ 0.02	90.3 $\pm$ 0.8
4:1	195.8 $\pm$ 9.3	3.37 $\pm$ 0.04	92.1 $\pm$ 1.1
6:1	142.2 $\pm$ 7.4	3.55 $\pm$ 0.02	95.7 $\pm$ 1.6
8:1	138.7 $\pm$ 6.1	3.26 $\pm$ 0.03	95.2 $\pm$ 1.9

2.3 临界胶束浓度(CMC)测定

按照质量比为6:1称取Pluronic F127和TPGS加入到茄形瓶中,采用“2.1”项下工艺制备空白聚合物薄膜,精密称取该聚合物薄膜100.0 mg加入蒸馏水充分水化,并定容至100 mL,作为空白聚合物储备液,取上述储备液加蒸馏水稀释至聚合物质量浓度为0.000 5~1.0 mg·mL⁻¹,备用;另精密称取2.0 mg芑至100 mL棕色量瓶中,加入丙酮溶解并定容,备用;取12支10 mL棕色量瓶,分别向其中精密移取芑的丙酮溶液100 μ L,氮气流下挥干丙酮,将不同浓度的聚合物溶液加入至10 mL棕色量瓶中,水浴超声2 h,室温下避光静置24 h;采用荧光分光光度计分别测量各样品在第一特征峰373 nm(I_{373})与第三特征峰384 nm(I_{384})下的荧光强度,并计算荧光强度之比(I_{373}/I_{384})。以聚合物浓度对数值(lgC)为横坐标, I_{373}/I_{384} 为纵坐标,进行线性拟合,确定Pluronic F127和TPGS质量比为6:1的临界胶束浓度。

临界胶束浓度是评价PMs性质的重要指标,其值反映了胶束的稀释稳定性。由图1可知, I_{373}/I_{384} 与lgC的切线交叉点即为临界胶束浓度,Pluronic F127和TPGS质量比为6:1的临界胶束浓度为0.031 mg·mL⁻¹,该值介于TPGS的临界胶束浓度(0.25 mg·mL⁻¹)和Pluronic F127的临界胶束浓度(0.028 mg·mL⁻¹)之间,较低的临界胶束浓度可避免由于体液稀释而造成的药物泄露^[18]。

2.4 表征

2.4.1 微观形貌(TEM) 取少量 α -Hed-PMs用蒸馏水适当稀释后滴加到Formvar®涂层的铜格栅上(400目),均匀铺展,用滤纸在液体边缘吸取多于水分,再向其滴加浓度为2%的磷钨酸钠溶液染色,室温风干,放在透射电镜下观察。电镜照片显

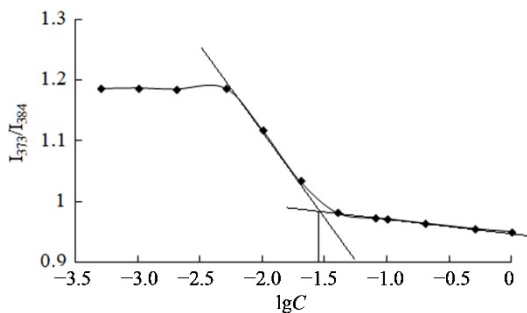


图1 Pluronic F127和TPGS质量比为6:1的 α -Hed-PMs的临界胶束浓度

Fig. 1 Critical micelle concentration of α -Hed-PMs with a mass ratio of Pluronic F127 to TPGS of 6:1

示, α -Hed-PMs呈类球形,均匀分散,粒径大多数在100~200 nm。结果见图2。

2.4.2 差示扫描量热法(DSC) 通过DSC分析可初步判断药物在PMs中的存在形态。分别称取 α -Hed原料药、 α -Hed与空白PMs物理混合物、 α -Hed-PMs各约5 mg,密封至测样铝坩埚中,并以另一个密封空铝坩埚作为对照,通过DSC对上述4份样品进行热分析。开通氮气,流量设置为30 mL·min⁻¹,升温速率设置为5 $^{\circ}$ C·min⁻¹,结果见图3。

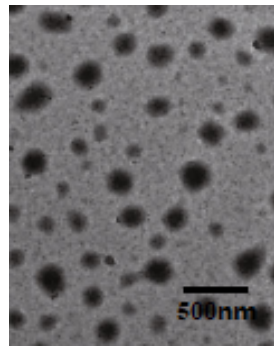


图2 α -Hed-PMs透射电镜照片

Fig. 2 Transmission electron microscopy photograph of α -Hed-PMs

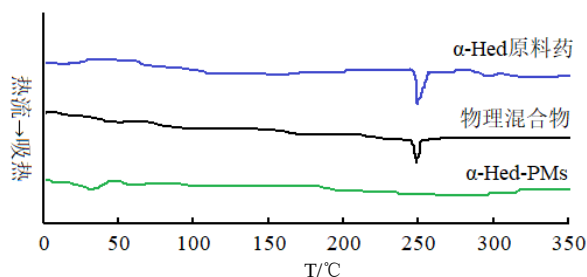


图3 差示扫描量热图

Fig. 3 Differential scanning calorimetry map

DSC 热分析结果显示, α -Hed 原料药与物理混合物均在 248.7 °C 处出现特征吸热峰, 该特征峰为药物熔点^[10]; 而 α -Hed-PMs 中在 248.7 °C 附近未检测到药物特征吸热峰, 这可推测 α -Hed 是以非晶态形式分散在 PMs 中。

2.5 稀释稳定性

载药 PMs 进入体内会被血液稀释, 导致其过早解离, 药物过早释放或沉淀, 副作用增强, 因此需要通过体外稀释稳定性进行评估。取 α -Hed-PMs 分别用 pH 5.0、6.0、7.4 磷酸盐缓冲液 (均含 0.2% 聚山梨酯 80) 稀释 200 倍, 在 0、6、12、24 h 取样观察外观, 并测定粒径分布, 评价 α -Hed-PMs 在不同 pH 缓冲液中的稀释稳定性, 结果见表 2。

表2 α -Hed-PMs 稀释稳定性结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Results of α -Hed-PMs dilution stability ($\bar{x} \pm s, n=3$)

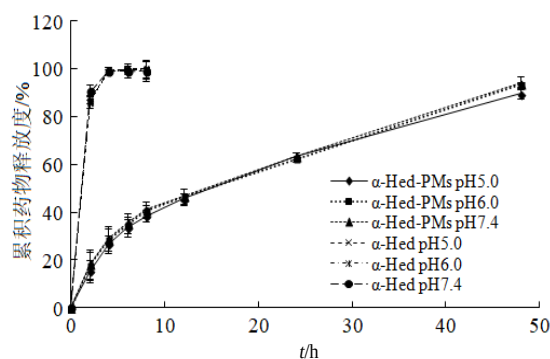
磷酸盐 缓冲液	粒径/nm			
	0	6 h	12 h	24 h
pH 5.0	145.5 $\pm$ 6.3	141.2 $\pm$ 5.4	146.1 $\pm$ 7.1	145.7 $\pm$ 5.9
pH 6.0	141.8 $\pm$ 7.1	139.0 $\pm$ 6.7	143.8 $\pm$ 3.7	137.9 $\pm$ 4.2
pH 7.4	139.6 $\pm$ 5.8	141.8 $\pm$ 6.8	137.3 $\pm$ 4.8	141.7 $\pm$ 6.3

结果显示, α -Hed-PMs 经 pH 5.0、6.0、7.4 缓冲液稀释后, 在 24 h 内均未出现絮凝或沉淀, 粒径也基本未发生改变, 说明 α -Hed-PMs 在不同 pH 溶液中稳定性较好, 这一方面是由于 PMs 具有较低的临界胶束浓度, 抗稀释能力较强, 另一方面是由于两亲性共聚物的疏水嵌段中的相互作用基团聚集在一起形成氢键, 从而稳定了疏水核心, 保持了胶束结构的完整性^[19]。可推测 α -Hed-PMs 进入血液循环或到达肿瘤部位后可以维持其稳定性, 药物不会快速泄露。

2.6 体外释放研究

使用透析法考察 α -Hed-PMs 在 pH 5.0、pH 6.0 和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 (均含 0.2% 聚山梨酯 80) 中的药物释放情况。取 α -Hed-PMs 2 mL 加入到

经纯化水浸泡过夜的透析袋 (截留相对分子质量为 10 000) 中, 两端系紧, 分别放入到体积均为 298 mL 的 pH 5.0、pH 6.0 和 pH 7.4 缓冲液 (水浴至 37 °C) 中, 设置搅拌速度为 100 r·min⁻¹, 在预定的时间点取出缓冲液 2 mL (补加对应的同温同体积空白缓冲液), 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 进 HPLC 检测药物含量, 计算药物累积释放度; 另取 α -Hed 原料药 20 mg 直接加入到溶出杯中, 操作同上。绘制 α -Hed-PMs 和 α -Hed 原料药在不同 pH 值缓冲液中的体外释药曲线, 结果见图 4。

图4 α -Hed 原料药和 α -Hed-PMs 在不同 pH 值缓冲液中的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 4 In vitro release profile of α -Hed API and α -Hed-PMs in different pH buffer ($\bar{x} \pm s, n=6$)

由释放曲线可知, α -Hed 原料药在 3 种 pH 值缓冲液中释药速率基本一致, 在 4 h 药物基本释放完全; 而 α -Hed-PMs 在 3 种 pH 值缓冲液中均在释药初期表现为突释, 这是由游离药物以及吸附在胶束表面或“核-壳”交界处的药物释放导致; 在释药后期表现为缓释, 在 50 h 药物基本释放完全, 这是由包裹在胶束“核”内部的药物通过扩散或者载体材料降解后药物释放所致^[20]。

2.7 药效学评价

2.7.1 体外抗肿瘤活性评价 采用 MTT 法比较 α -Hed 和 α -Hed-PMs 对 HepG2 细胞的细胞毒性。将处于指数生长期的 HepG2 细胞悬浮液 (细胞浓度为 $5 \times 10^3 \cdot \text{mL}^{-1}$) 接种到 96 孔板上, 每孔 100 μ L, 在 37 °C 和 5% CO₂ 的培养箱中孵育 24 h, 除去培养基, 每孔中分别加入不同质量浓度 (4、8、16、32、64 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的游离 α -Hed、 α -Hed-PMs 和空白 PMs, 在相同条件下孵育 48 h, 弃去药液, 再用磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 清洗 3 次, 然后每孔中加入 MTT (5 mg·mL⁻¹) 溶液 200 μ L, 继续孵育 4 h, 形成紫色结晶, 去除上清液, 加入 DMSO 100 μ L 溶解形成的甲醛晶体, 15 min 后, 使用酶标仪测定溶解液吸光

度(A)值,并以未加药物组作为对照,以培养基组作为空白,计算细胞存活率。结果见图5。

$$\text{存活率} = (A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白}})$$

实验结果显示, α -Hed和 α -Hed-PMs对HepG2细胞抑制作用均随着药物浓度增加而增强,说明HepG2细胞的存活率与药物浓度呈相关性;在相同的药物浓度条件下, α -Hed-PMs对HepG2细胞的抑制作用强于 α -Hed($P < 0.05, 0.01$),这是由于PMs中TPGS可以增强药物的渗透性,使其更易进入细胞内部,从而提高了药物对细胞的杀伤能力^[21]。另外,空白PMs浓度在40~640 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对HepG2细胞未产生抑制作用,说明空白PMs对HepG2细胞没有毒性。

2.7.2 体内抗肿瘤活性评价 指数生长期的

HepG2细胞用0.9%氯化钠溶液稀释至 $1.0 \times 10^3 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。在无菌条件下,取细胞混悬液0.5 mL注入BALB/c裸鼠腹腔,1周后从荷瘤小鼠中取出腹水,离心收集HepG2细胞,0.9%氯化钠溶液稀释,取细胞混悬液($1.0 \times 10^7 \cdot \text{mL}^{-1}$)200 μL 接种于BALB/c裸鼠腹部皮下。当肿瘤生长到约100 mm^3 时,将BALB/c荷瘤小鼠随机分为3组,每组6只,分别股静脉注射0.9%氯化钠溶液(对照组)、 α -Hed和 α -Hed-PMs(给药剂量均为30 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[9]),其中 α -Hed原料药溶解于PEG400中给药。每2天给药1次,连续给药10次,每次给药前称量各组荷瘤小鼠体重,并使用游标卡尺测量肿瘤的长径(D_{max})与短径(D_{min}),计算肿瘤体积,结果见图6。

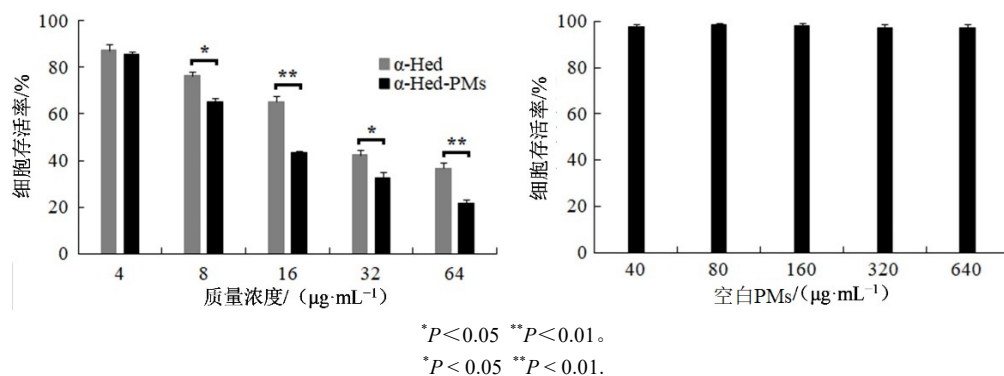


图5 α -Hed、 α -Hed-PMs和空白PMs对HepG2细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 In vitro cell viability analysis of α -Hed, α -Hed-PMs and blank PMs in human HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

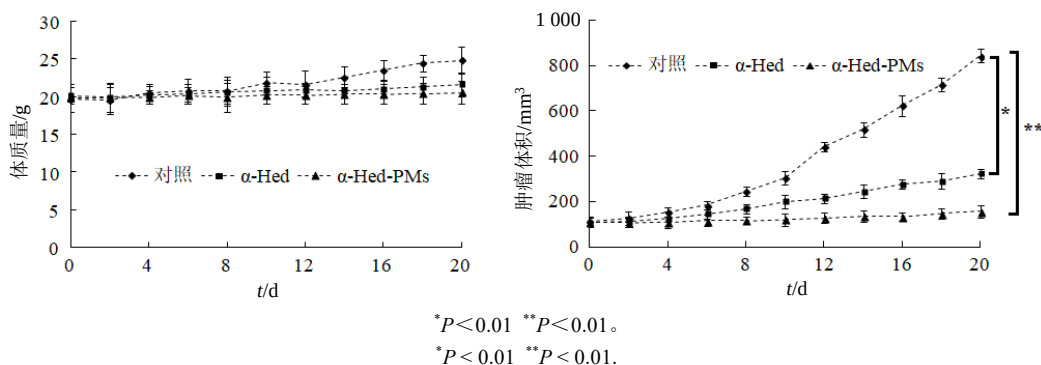


图6 α -Hed和 α -Hed-PMs对荷瘤小鼠体重及肿瘤体积的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 6 Effects of α -Hed and α -Hed-PMs on tumor weight and tumor volume of nude mice bearing tumor ($\bar{x} \pm s, n=6$)

$$\text{肿瘤体积} = D_{\text{max}} \times (D_{\text{min}})^2 / 2$$

由实验结果可知,注射0.9%氯化钠溶液的荷瘤小鼠在20 d后体重明显增长,肿瘤体积显著增加;注射 α -Hed溶液的荷瘤小鼠在20 d后体重微弱增长,肿瘤体积缓慢增加;而注射 α -Hed-PMs的荷瘤小鼠在20 d后体重基本未增长,肿瘤体积也基本未增加。与对照组比较, α -Hed和 α -Hed-

PMs均能显著地抑制肿瘤体积增长($P < 0.05, 0.01$),且 α -Hed-PMs抑制肿瘤生长更明显。

2.8 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析,分析方式为 t 检验。

3 讨论

本研究以Pluronic F127和TPGS作为载体材

料,采用溶剂蒸发-薄膜水化分散法将 α -Hed制备成PMs,实验结果表明, α -Hed-PMs呈类球状分布,大多数粒径在100~200 nm,药物在PMs中以非晶态形式分布, α -Hed-PMs在pH 5.0、pH 6.0和pH 7.4 3种释放介质中稀释稳定性较好,且药物释放速率基本一致;体内外药效学研究显示, α -Hed-PMs对HepG2细胞的抑制作用均强于 α -Hed原料药,这主要是由于 α -Hed-PMs的外壳由亲水基团形成亲水性位阻屏障,保护PMs不被网状内皮系统(RES)非特异性摄取,延长体循环时间,有助于体内胶束的稳定。此外, α -Hed-PMs粒径小且均匀,可通过增强通透性和滞留(EPR)效应在肿瘤组织中被动积累,从而增强抗肿瘤活性,并减少副作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张铁,彭翠平,王永林,等. α -常春藤皂苷抗肿瘤作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(2): 175-179.
- Zhang T, Peng C P, Wang Y L, et al. Anti-tumor effect and mechanisms of alpha-hederin [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2015, 26(2): 175-179.
- [2] 邢颖,南敏伦,王雪,等. 常春藤皂苷元的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 226-234.
- Xing Y, Nan M L, Wang X, et al. Research progress of hederagenin [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2017, 23(22): 226-234.
- [4] Chen J B, Xu J, Yang J H, et al. α -hederin overcomes hypoxia-mediated drug resistance in colorectal cancer by inhibiting the AKT/Bcl2 pathway [J]. Int J Oncol, 2023, 62(3): 33.
- [5] Liu Y H, Lei H B, Ma J J, et al. α -hederin increases the apoptosis of cisplatin-resistant gastric cancer cells by activating mitochondrial pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 8737-8750.
- [6] Cheng L, Xia T S, Wang Y F, et al. The anticancer effect and mechanism of α -hederin on breast cancer cells [J]. Int J Oncol, 2014, 45(2): 757-763.
- [7] 张步鑫,赵献敏,成琼,等. α -常春藤皂苷对黑色素瘤B16细胞增殖和凋亡的影响及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(12): 81-85.
- Zhang B X, Zhao X M, Cheng Q, et al. Effect of α -hederin on cell proliferation and apoptosis in melanoma B16 cells and its mechanism [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2018, 24(12): 81-85.
- [8] 何明珍,梁起栋,饶小勇,等. α -常春藤皂苷的平衡溶解度及表观油水分配系数的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(13): 52-54.
- He M Z, Liang Q D, Rao X Y, et al. Determination of equilibrium solubility and apparent oil-water partition coefficient of α -hederin [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2014, 20(13): 52-54.
- [9] 周军,刘健. β -环糊精-聚乙二醇- α -常春藤皂苷自组装胶束的制备和抗肿瘤活性研究[J]. 现代药物与临床, 2021, 36(7): 1375-1378.
- Zhou J, Liu J. Preparation of β -CD-PEG- α -hederin self-assembly micelle and its anti-tumor activity [J]. Drugs Clin, 2021, 36(7): 1375-1378.
- [10] 朱蓉,尹红然,游本刚,等. α -常春藤皂苷壳聚糖纳米粒的制备及其体外评价[J]. 中成药, 2013, 35(9): 1906-1911.
- Zhu R, Yin H R, You B G, et al. Preparation of α -hederin loaded chitosan nanoparticles and *in vitro* study [J]. Chin Tradit Pat Med, 2013, 35(9): 1906-1911.
- [11] 李颖,尹红然,耿丽娟,等. α -常春藤皂苷丙烯酸树脂L100-55纳米粒的制备及体外评价[J]. 药学研究, 2014, 33(8): 464-468, 474.
- Li Y, Yin H R, Geng L J, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of saponins PD- loaded eudragit L100-55 nanoparticles [J]. J Pharm Res, 2014, 33(8): 464-468, 474.
- [12] Perumal S, Atchudan R, Lee W. A review of polymeric micelles and their applications [J]. Polymers, 2022, 14(12): 2510.
- [13] Shen C Y, Shen B D, Zhu J J, et al. Glycyrrhizic acid-based self-assembled micelles for improving oral bioavailability of paeoniflorin [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2021, 47(2): 207-214.
- [14] Wan Z Y, Zheng R H, Moharil P, et al. Polymeric micelles in cancer immunotherapy [J]. Molecules, 2021, 26(5): 1220.
- [15] Shen C Y, Zhu J J, Song J W, et al. Formulation of pluronic F127/TPGS mixed micelles to improve the oral absorption of glycyrrhizic acid [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2020, 46(7): 1100-1107.
- [16] 邢小燕,果秋婷,徐长青,等. 甘草苷纳米胶束的制备与评价[J]. 西北药学杂志, 2023, 38(2): 129-134.
- Xing X Y, Guo Q T, Xu C Q, et al. Preparation and evaluation of liquiritin nanomicelles [J]. Northwest Pharm J, 2023, 38(2): 129-134.
- [17] 李因文,田润,王晓红,等. 聚合物胶束纳米药物的研究进展[J]. 高分子材料科学与工程, 2020, 36(1): 167-174.
- Li Y W, Tian R, Wang X H, et al. Progress of polymeric micelle as vehicles for nanomedicine [J]. Polym Mater Sci Eng, 2020, 36(1): 167-174.

- [18] Katekar R, Thombre G, Riyazuddin M, et al. Pharmacokinetics and brain targeting of *trans*-resveratrol loaded mixed micelles in rats following intravenous administration [J]. Pharm Dev Technol, 2020, 25(3): 300-307.
- [19] Wang S P, Chen R E, Morott J, et al. mPEG-b-PCL/TPGS mixed micelles for delivery of resveratrol in overcoming resistant breast cancer [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2015, 12(3): 361-373.
- [20] 徐天蛟, 刘艳霞. 聚乳酸-羟基乙酸共聚物负载坎地沙坦酯纳米粒的制备及体内外评价 [J]. 中国药师, 2021, 24(10): 1817-1822.
- Xu T J, Liu Y X. Preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation of candesartan cilexetil-loaded poly (lactico-glycolic acid) nanoparticles [J]. China Pharm, 2021, 24 (10): 1817-1822.
- [21] Ding Y F, Ding Y Y, Wang Y T, et al. Soluplus®/TPGS mixed micelles for co-delivery of docetaxel and piperine for combination cancer therapy [J]. Pharm Dev Technol, 2020, 25(1): 107-115.

[责任编辑 兰新新]