

聚多巴胺-砒霜纳米递药系统的构建及其抑瘤效果

袁一超¹, 王春梅^{2#}, 李策¹, 张纪平¹, 费芸萱¹, 高韩怡¹, 马意琳¹, 郑杭生^{1*}, 朱志红^{1*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311400

2. 衢州市柯城区中医医院, 浙江 衢州 324000

摘要: **目的** 通过制备聚多巴胺的砒霜纳米递药系统 (polydopamine-arsenic trioxide nano-drug delivery system, PDA-ATO@NDDS) 来提高砒霜治疗肿瘤的疗效。**方法** 在碱性条件下制备搭载砒霜的聚多巴胺纳米粒 (PDA-ATO@NDDS), 利用单因素考察法优化合成条件; 通过透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM)、激光粒度仪表征纳米粒大小; 采用透析袋法考察其体外释药特性; 采用电感耦合等离子体发射光谱 (inductive coupled plasma emission spectrometer, ICP) 测定其包封率与载药量; 并对其体内外抗肿瘤效果进行考察。**结果** PDA-ATO@NDDS 的最佳合成条件为 PVP 用量 0.5 g, MnCl₂ 与 ATO 用量比为 1:5, 孵育时间 4 h; 制备的 PDA-ATO@NDDS 在 TEM 下外观呈圆形或类圆形, 平均粒径为 (243.5±3.5) nm, 多分散指数 (polydispersity index, PDI) 为 0.229±0.011; 包封率和载药量分别为 (8.74±0.03)% 和 (14.21±0.06)%; 体外释药度考察显示, 砒霜纳米粒具有一定的缓释效果。细胞毒性实验表明, 在低浓度下 PDA-ATO@NDDS 对细胞具有较强毒性 ($P<0.01$)。体内药效学表明, ATO 与 PDA-ATO@NDDS 对小鼠肿瘤的抑制具有显著性差异 ($P<0.05$), PDA-ATO@NDDS 具有较好的肿瘤抑制作用。**结论** PDA-ATO@NDDS 递药系统提高了砒霜治疗肿瘤的疗效, 为砒霜新型递药系统的构建及其在肿瘤治疗中的应用提供参考。

关键词: 砒霜; 聚多巴胺; 药效学评价; 抗肿瘤; 纳米递药系统

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)23-7759-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.018

Construction and evaluation of anti-tumor effect of polydopamine-arsenic nano-drug delivery system

YUAN Yi-chao¹, WANG Chun-mei², LI Ce¹, ZHANG Ji-ping¹, FEI Yun-xuan¹, GAO Han-yi¹, MA Yi-lin¹, ZHENG Hang-sheng¹, ZHU Zhi-hong¹

1. School of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311400, China

2. Kecheng District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Quzhou 324000, China

Abstract: Objective To improve the efficacy of arsenic in the treatment of tumors by preparing a polydopamine-arsenic trioxide nano-drug delivery system (PDA-ATO@NDDS). **Methods** PDA-ATO@NDDS were prepared under alkaline conditions, and the synthesis conditions were optimized by single-factor method; The size of PDA-ATO@NDDS was characterized by transmission electron microscope (TEM) and laser particle size measurement; The *in vitro* drug release characteristics were investigated by dialysis bag method; the encapsulation rate and drug loading were determined by inductively coupled plasma emission spectrometer (ICP); And the *in vitro* and *in vivo* anti-tumor effects were investigated. **Results** The optimal synthesis conditions of PDA-ATO@NDDS were 0.5 g of PVP, 1:5 of MnCl₂:ATO, and 4 h of incubation time; the prepared PDA-ATO@NDDS had a round or round-like appearance with an average particle size of (243.5±3.5) nm and PDI of 0.229±0.011. The encapsulation rate and drug loading was (8.74±0.03)% and (14.21±0.06)%, respectively; The *in vitro* release study showed that PDA-ATO@NDDS could delay the release

收稿日期: 2023-06-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82003954); 浙江省自然科学基金资助项目 (LY23H280010); 浙江省大学生科技创新活动计划 (新苗人才计划) (2023R410040); 2023 年浙江中医药大学校级科研项目 (2023JKZKTS23)

作者简介: 袁一超 (2002—), 男, 本科生, 研究方向为中药制药学。E-mail: 1944557087@qq.com

*通信作者: 朱志红 (1991—), 女, 研究方向为中药制药学和药剂学。E-mail: zzhjanny@163.com

郑杭生, 男, 研究方向为中药制药学、药剂学。

#共同第一作者: 王春梅, 女, 研究方向为临床治疗学。

of arsenic. Cytotoxicity experiments showed that PDA-ATO@NDDS had the strongest toxic to cells at low concentrations ($P < 0.01$). *In vivo* pharmacodynamics showed PDA-ATO@NDDS had a better tumor inhibitory effect compared to ATO ($P < 0.05$). **Conclusion** The PDA-ATO@NDDS improved the anti-tumor efficacy of arsenic, and provided a reference for the construction of a novel drug delivery system for arsenic and its application in tumor therapy.

Key words: arsenic; polydopamine; pharmacodynamic evaluation; antitumor; nano drug delivery system

砒霜 (arsenic trioxide, ATO, 主要成分为三氧化二砷) 具有消除腐肉、祛痰止咳、截疟等功效^[1-2]。《本草汇言》谓砒霜为“化痕肉之药”, 而《本草蒙笙》中记载其具有“溃坚磨积”作用。现代研究表明砒霜对乳腺癌、肝癌和神经胶质瘤等多种实体肿瘤也有明显的治疗作用^[3-4], 但由于其在体内分布缺乏特异性限制了其在临床治疗中的应用^[5]。

多巴胺在调控肿瘤生长和肿瘤血管生成中起着重要作用^[6], 并参与肿瘤免疫调控^[7], 是有效减弱砒霜对正常组织毒性的理想物质。同时, 由多巴胺在碱性条件下自聚而成的聚多巴胺也是一种多功能的新型仿生材料, 具有良好的生物相容性与优异的光热转换性能^[8-9]。此外聚多巴胺还具有高黏附性、高化学反应性和多重药物释放响应机制等优势, 是优良的药物递送载体^[10-11]。因此, 本实验聚焦于聚多巴胺与砒霜, 以聚多巴胺作为砒霜的递药系统聚多巴胺-砒霜纳米递药系统 (polydopamine-arsenic trioxide nano-drug delivery system, PDA-ATO@NDDS), 并对大小、载药量、包封率、体内外药抑瘤效果等进行考察, 以期砒霜新型递药系统的构建及其在肿瘤治疗中的应用提供参考。

1 仪器与材料

TG16-WS 型台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; TP-600 型电子天平, 福州华志科学仪器有限公司; DF-101 型集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; DMI1 型倒置生物显微镜, 南京贝登电子商务有限公司; Nano-ZS90 型马尔文粒径仪, 英国 Malvern 仪器有限公司; H-7650 型透射电子显微镜, 日本日立公司; ICP-OES 725 ES 型电感耦合等离子体光谱仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; DHG-9146A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; 1580R 型高速台式离心机、Mars 1200 型超净台, 丹麦 Labogene 仪器有限公司; ELX808 型酶标仪, 美国 Blotek 公司; Forma 型系列 CO₂ 细胞培养箱, 赛默飞世尔科技有限公司。

聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinylpyrrolidone, PVP), 批号 B25J7S9437, 购自上海源叶生物科技有限公

司; NaAsO₂, 批号 202302131, 购自成都博瑞特化学技术有限公司; 无水 MnCl₂, 批号 C13784121, 购自江苏强盛功能化学股份有限公司; 氨丁三醇 (tromethamine, Tris), 批号 20220101, 购自上海艾伟拓医药技术有限公司; 盐酸多巴胺, 质量分数 98%, 批号 H2131138, 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 丙酮, 批号 20160708, 购自华东医药股份有限公司; 噻唑蓝化学染料 MTT, 批号 J11HS184377, 购自上海碧云天生物技术有限公司; 二甲基亚砷溶液 (DMSO), 批号 C15277000, 购自华东医药股份有限公司; DMEM 培养基, 批号 8123269, 购自赛默飞世尔科技有限公司; 青霉素-链霉素溶液, 批号 BL505A, 购自广州硕谱生物科技有限公司; 胎牛血清 (FBS), 批号 22090703, 购自浙江天杭生物科技股份有限公司; 磷酸盐缓冲液 (PBS), 批号 HK0002, 购自杭州浩克生物技术有限公司。所有试剂均为分析纯。

小鼠肝癌细胞 (H22) 来自浙江中医药大学实验动物研究中心。

雄性昆明 (KM) 小鼠, 体质量 (25±10) g, 由浙江中医药大学实验动物研究中心 (中国杭州) 提供。所有实验均按照浙江中医药大学制定和监督的动物护理和使用指南进行, 伦理编号为 IACUC-20190527-02。

2 方法与结果

2.1 PDA-ATO@NDDS 的制备

称取适量 PVP 溶于 10 mL 纯水中, 加入 13 mg/mL NaAsO₂ 溶液 5 mL, 室温下 20 r/min 搅拌 1 h。随后以 5 s/滴的速度加入一定量的 MnCl₂ 溶液, 室温搅拌 1 h, 得到亚砷酸锰内核。再加入 189 mg/mL 盐酸多巴胺溶液 0.5 mL, 在室温下搅拌孵育一定时间得到 PDA-ATO 纳米粒。最后用 18 mL 丙酮溶液沉淀样品, 转速为 13 000 r/min 离心 (离心半径为 6.30 cm) 20 min, 水洗 3 次, 20 mL 纯水复溶, 即得 PDA-ATO@NDDS。

2.2 单因素考察 PDA-ATO@NDDS 的处方及制备工艺

2.2.1 PVP 用量考察 称取 0.1、0.5、1.0 g PVP 溶

于 10 mL 纯水中，按“2.1”项中方法合成。观察溶液形态并测量其粒径。结果如表 1 所示。综合溶液形态以及粒径数据，因此选取 0.5 g PVP 用量进行纳米粒的制备。

表 1 PVP 用量对 PDA-ATO@NDDS 粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of PVP dosage on particle size of PDA-ATO@NDDS preparation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

PVP 用量/g	溶液形态	粒径/nm	PDI
0.1	黑色澄清液体	398.7±7.8	0.293±0.012
0.5	黑色澄清液体	243.5±3.5	0.229±0.011
1.0	黑色澄清液体	272.5±3.9	0.203±0.007

2.2.2 MnCl₂ 用量考察 按“2.1”项中方法分别合成 MnCl₂ 与砒霜用量比为 1:10 和 1:5 的 PDA-ATO@NDDS，观察溶液形态并测量其粒径。结果如表 2 所示。综合溶液形态以及粒径数据，选取投料比为 1:5 的方式进行纳米粒的制备。

2.2.3 孵育时间考察 孵育时间分别为 4、8、12 h，按“2.1”项中方法合成。观察溶液形态并测量其粒径。结果如表 3 所示。综合溶液形态以及粒径数据，选取 4 h 的反应时间进行纳米粒的制备。

表 2 MnCl₂ 用量对 PDA-ATO@NDDS 粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of MnCl₂ dosage on particle size of PDA-ATO@NDDS preparation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

MnCl ₂ 与砒霜物质的量比	溶液形态	粒径/nm	PDI
1:5	黑色澄清液体	245.6±2.4	0.243±0.019
1:10	少量丝状沉淀	-	-

表 3 孵育时间对 PDA-ATO@NDDS 粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of incubation time on particle size of PDA-ATO@NDDS preparation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

孵育时间/h	溶液形态	粒径/nm	PDI
4	黑色澄清液体	245.6±2.4	0.243±0.019
8	少量丝状沉淀	-	-
12	少量丝状沉淀	-	-

2.3 PDA-ATO@NDDS 的表征

2.3.1 粒径 用马尔文粒径仪测定聚多巴胺、ATO-PDA@NDDS 的粒径及其分布。实验方法：在室温条件下，吸取适量样品溶液，置于粒径杯中，放入马尔文粒径仪检测粒径和分布。结果如表 4 所示。

表 4 聚多巴胺和 PDA-ATO@NDDS 的粒径以及 PDI ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Particle size and PDI of PDA and PDA-ATO@NDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	粒径/nm	PDI
聚多巴胺	148.2±12.4	0.127±0.011
PDA-ATO@NDDS	243.5±3.5	0.229±0.011

2.3.2 外观形态 TEM 结果 (图 1) 显示，PDA-ATO@NDDS 形态规整，呈圆整球形或类球形，分散性良好，无团聚现象。

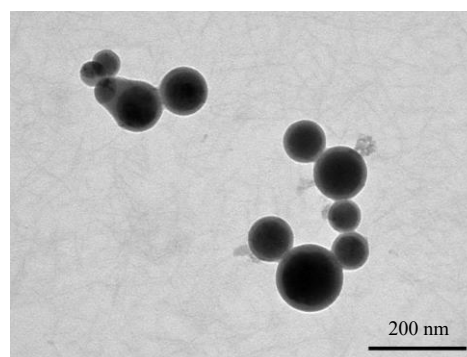


图 1 PDA-ATO@NDDS 的 TEM 图

Fig. 1 TEM photograph of PDA-ATO@NDDS

2.3.3 放置稳定性考察 将制备好的 PDA-ATO@NDDS 分散于蒸馏水、PBS 缓冲液 (pH 7.4)、DMEM 完全培养基、DMEM 培养基 (无胎牛血清) 中，于室温环境放置，分别测定其 0、1、2、3、4、5、6、7 d 的粒径变化，以考察其稳定性，结果见图 2。由实验结果可知，在考察时间内，PDA-ATO@NDDS 在水溶液中保持稳定，在 DMEM 完全培养基中可短时间保存，但是在 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 以及 DMEM 培养基 (无胎牛血清) 中会立即析出。该结果为 PDA-ATO@NDDS 的溶解介质选择提供了重要信息。

2.3.4 体外释药考察 选用 pH 值为 7.4 的 PBS 为释放介质，考察砒霜固体颗粒与 PDA-ATO@NDDS 中砒霜的释放特征。其中，砒霜固体颗粒的释放按照《中国药典》2020 年版 (通则 0931 第二法) 进行。PDA-ATO 的释放则采用透析袋法，移取“2.1”项中方法制备的 PDA-ATO@NDDS 溶液 1 mL，置于预先处理过的透析袋内，排除气泡后密封，置于 10 mL 释放介质中，于 37 °C 恒温水浴振荡 (100 r/min)，分别于 5、10、15、30 min 及 1、2、4、8、12、24 h 更换全部溶出介质。

将所有样品通过 ICP-OES 仪器测定。参数设定

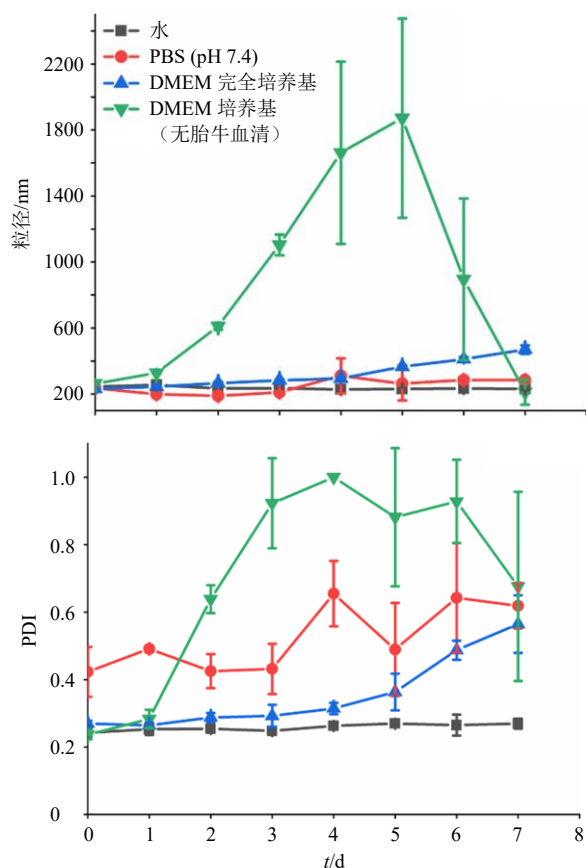


图 2 PDA-ATO@NDDS 制剂在不同介质中的粒径和 PDI 变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 2 Particle size and PDI of PDA-ATO@NDDS in different media ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

如下：等离子体流量调为 15.0 L/min，辅助气流量调为 1.50 L/min，射频功率调为 1.20 kW，雾化器流量调为 0.75 L/min，进样延时调为 10 s，读数次数为 3 次，1 次读数时间为 15 s。

最后计算累积释放度，绘制释药曲线，结果见图 3。根据研究结果可知，砒霜原料药在相同 pH 值条件下释药迅速，而 PDA-ATO@NDDS 的 2 h 累积释放量为 61.46%，在一定程度上延缓了药物砒霜的释放速率。

2.3.5 载药量与包封率 取“2.2.1”中合成的 PDA-ATO@NDDS 制剂 1 mL 置于 120 °C 烘箱中烘干，称量质量为 W_0 ；将 1 mL PDA-ATO@NDDS 中加入的总砒量记为 W_1 ；根据 ICP 测得的 1 mL PDA-ATO@NDDS 中砒含量 W_2 。按以下公式分别计算砒霜的包封率和载药量。经过测定得到其包封率为 $(8.74 \pm 0.03)\%$ ；载药量为 $(14.21 \pm 0.06)\%$ 。

$$\text{包封率} = W_2 / W_1$$

$$\text{载药量} = W_2 / W_0$$

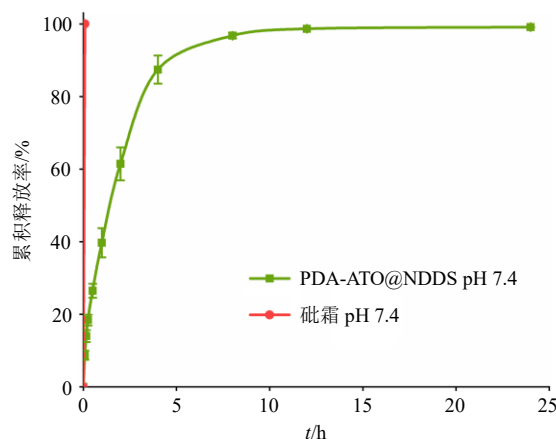


图 3 砒霜与 PDA-ATO@NDDS 体外释药曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 3 ATO and PDA-ATO@NDDS in vitro release curve ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.4 PDA-ATO@NDDS 的体外抑瘤效果考察

取处于对数生长期的 H22 细胞，以 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板，加入含不同质量浓度砒霜、PDA-ATO@NDDS 的无血清培养基。药物处理 24 h 后，通过 MTT 法在 570 nm 测定吸光度 (A) 值，并按公式计算细胞存活率以及半数抑制浓度 (IC_{50}) 值。最终将实验结果表示为 $\bar{x} \pm s$ 。组间比较使用 SPSS 25.0 的独立样本 t 检验，当 $P < 0.05$ 时认为数据间拥有统计学意义的差异。

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

$A_{\text{实验}}$ 为实验组的 A 值， $A_{\text{对照}}$ 为阴性对照组的 A 值， $A_{\text{空白}}$ 为空白组的 A 值

通过 SPSS 25.0 软件分析数据得到，砒溶液的 IC_{50} 值为 $13.47 \mu\text{g/mL}$ ，而 PDA-ATO@NDDS 的 IC_{50} 值仅为 $3.84 \mu\text{g/mL}$ 。由此可知 PDA-ATO@NDDS 对于肝癌细胞的毒性要远优于砒溶液本身。如表 5 所示，具体分析两者对 H22 细胞的毒性数据，结果显示在低质量浓度下 PDA-ATO@NDDS 比砒霜细胞毒性更强，二者具有显著性差异 ($P < 0.01$)。

2.5 PDA-ATO@NDDS 的体内抑瘤效果

2.5.1 皮下肿瘤与给药方案 在体质量 25 g 左右的雄性 KM 小鼠的右侧前腿根部注射 3×10^7 个/mL H22 细胞 0.1 mL。待肿瘤长到 150 mm^3 左右时，将 KM 小鼠随机分为 3 组，每组 3 只，分别为对照组（生理盐水）、砒霜溶液组、PDA-ATO@NDDS 组，组内分别标号为 A、B、C，给药浓度均为 $25 \mu\text{g}/\text{只}$ 。

另外，预留 3 只正常小鼠注射生理盐水作为空白对照。随后尾 iv 给药，每 3 天给药 1 次，并测量小鼠体质量以及肿瘤大小。根据实验动物伦理，实

验中若小鼠肿瘤长度大于 15 mm 或肿瘤部位溃烂即判定小鼠死亡，立即处死小鼠，终止实验。肿瘤体积根据公式计算得到。

$$\text{肿瘤体积} = \text{肿瘤长} \times \text{肿瘤宽}^2 / 2$$

2.5.2 数据处理 将实验结果表示为 $\bar{x} \pm s$ 。组间比较使用 SPSS 25.0 的独立样本 *t* 检验，当 $P < 0.05$ 时认为数据间拥有统计学意义的差异。

表 5 砒霜和 PDA-ATO@NDSS 对 H22 细胞的细胞毒性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 5 Cytotoxicity of ATO and PDA-ATO@NDSS to H22 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	细胞存活率/%				
	0.39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	1.56 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	3.13 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	6.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
砒霜	97.60 \pm 6.95	99.48 \pm 5.78	91.81 \pm 6.02	56.92 \pm 1.92	42.03 \pm 2.09
PDA-ATO@NDSS	74.89 \pm 2.55**	61.88 \pm 7.47**	54.84 \pm 1.97**	49.13 \pm 6.26	38.59 \pm 1.17

与砒霜比较: ** $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs arsenic trioxide

表 6 小鼠肿瘤体积和体质量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 6 Tumor volume and body weight in mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	肿瘤体积/ mm^3			体质量/g		
	0 d	3 d	6 d	0 d	3 d	6 d
对照	160.11 \pm 18.54	390.38 \pm 24.84	790.88 \pm 104.78	29.13 \pm 2.34	32.73 \pm 3.19	36.53 \pm 3.38
砒霜	180.60 \pm 53.05	245.07 \pm 23.93##	422.79 \pm 89.66##	29.37 \pm 0.99	32.77 \pm 0.55	37.27 \pm 1.75
PDA-ATO@NDSS	115.22 \pm 28.50	144.67 \pm 6.07***##	206.53 \pm 57.16***##	29.67 \pm 1.40	33.33 \pm 1.91	37.10 \pm 3.28

与砒霜组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与对照组比较: ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs arsenic trioxide group; ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group

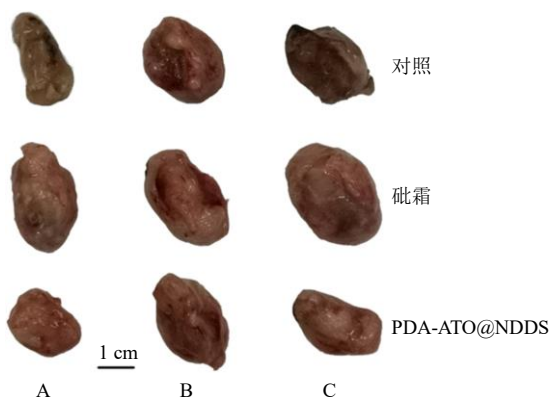


图 4 小鼠肿瘤图片
Fig. 4 Tumor picture of mice

3 讨论

本实验制备的 PDA-ATO@NDSS 制剂为黑色水溶液，在透射电镜下观察纳米粒呈圆形或类圆形，分散性良好。据文献记载，粒径在 10~500 nm 的纳米颗粒，具有一定的高通透性和滞留效应（EPR 效应）^[12]。本实验制备的 PDA-ATO@NDSS 粒径为 (243.5 \pm 3.5) nm，故拥有一定的肿瘤靶向性^[13]。这

2.5.3 小鼠肿瘤体积与体质量 根据“2.5.1”项中的实验方案得到小鼠肿瘤体积、体质量数据（表 6）以及肿瘤大小（图 4）。结果显示，给药期间小鼠体质量并未明显减轻，在给药后期砒霜组与 PDA-ATO@NDSS 组的肿瘤都得到了有效的抑制，并且 PDA-ATO@NDSS 的抑制效果要优于砒霜组，2 组间的肿瘤体积拥有显著性差异。

解决了砒霜溶液在体内靶向性差，生物体内分布不良的问题，为砒霜的减毒增效提供了理论基础。

由体外释放的结果可知，PDA-ATO@NDSS 制剂相对于砒霜溶液在一定程度上延缓了药物的释放。这可能是由于：（1）在制剂合成过程中加入了一定量的 MnCl_2 与砒霜结合形成亚砷酸锰复合物^[14]。（2）聚多巴胺本身具有强黏附作用^[15-16]。同时，本实验通过将原料药与多巴胺混合后，再进行聚多巴胺自聚合反应的方式，将制剂的载药量提升到 (14.21 \pm 0.06) %，这相较于传统的砒霜制剂载药量有所上升。PDA-ATO@NDSS 制剂一定的缓释特性和高载药量解决了砒霜在临床使用中释放过快、起效浓度较高的问题。

由体外药效学实验可知，砒霜与 PDA-ATO@NDSS 对 H22 细胞的 IC_{50} 值分别为 13.46、3.83 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，且在低质量浓度下 PDA-ATO@NDSS 对细胞毒性影响与砒霜有显著性差异 ($P < 0.01$)。这可能是因为在制剂合成过程中形成的亚砷酸锰中间体具有一定的 pH 敏感性，可以触发药物释放到晚期

内涵体或溶酶体中，或促进药物递送系统从溶酶体逃逸到细胞细胞质中，利于药物的细胞内积累^[17]。此实验结果表明在进行载体修饰后，制剂能在更低浓度下达到比砒霜更好的效果，在体外印证了 PDA-ATO@NDDS 减毒增效的结论。由体内药效学实验表明，砒霜与 PDA-ATO@NDDS 对小鼠体表实体瘤均有较好的抑制作用。但 PDA-ATO@NDDS 对肿瘤体积的抑制效果要远优于砒霜，两者效果拥有显著性差异 ($P < 0.05$)。且在给药期间受试小鼠的体质量并未减轻，未出现脱毛现象，从侧面说明了药物的毒性并未对器官造成实质性损伤。这可能是由于：(1) PDA-ATO@NDDS 制备过程中加入了 $MnCl_2$ ，而据研究表明 Mn^{2+} 在肿瘤免疫中存在着重要作用，因此从而提高了制剂疗效，减弱了其毒性^[18-20]。(2) 多巴胺有促进肿瘤血管正常化的作用，起到了辅助治疗的作用^[5]。总之，该实验从体内证明了 PDA-ATO@NDDS 可改善砒霜原有缺陷并改善药物靶向性，从而提高疗效，减弱毒性。

综上所述，PDA-ATO@NDDS 可有效改善砒霜在治疗实体瘤方面体内载药量低、靶向性差、无特异性分布等缺陷，为砒霜有效应用于实体瘤的治疗奠定基础。此外，本实验首次实现了聚多巴胺与砒霜的成功结合，增强砒霜抗肿瘤效果的同时减弱了其对正常组织的毒性，为砒霜新型递药系统的构建提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王笑红, 张宇婷, 吴婕, 等. 三氧化二砷三元复合物纳米递送系统的构建及评价 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1382-1391.
- [2] 黄喻情. 砒霜药用简史 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- [3] 孙鸿德, 马玲, 胡晓晨, 等. 癌灵 I 号结合中医辨证治疗急性早幼粒细胞白血病 32 例 [J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(3): 170-171.
- [4] Ding D C, Lim K S, Eberhart C G. Arsenic trioxide inhibits Hedgehog, Notch and stem cell properties in glioblastoma neurospheres [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, 2: 31.
- [5] Liu B, Pan S H, Dong X S, *et al.* Opposing effects of arsenic trioxide on hepatocellular carcinomas in mice [J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(7): 675-681.
- [6] Chakroborty D, Sarkar C, Yu H M, *et al.* Dopamine stabilizes tumor blood vessels by up-regulating angiopoietin 1 expression in pericytes and Kruppel-like factor-2 expression in tumor endothelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(51): 20730-20735.
- [7] Zhang X A, Liu Q F, Liao Q A, *et al.* Potential roles of peripheral dopamine in tumor immunity [J]. *J Cancer*, 2017, 8(15): 2966-2973.
- [8] Liu Y L, Ai K L, Lu L H. Polydopamine and its derivative materials: Synthesis and promising applications in energy, environmental, and biomedical fields [J]. *Chem Rev*, 2014, 114(9): 5057-5115.
- [9] 梁国海, 邢达. 用于肿瘤光热治疗的有机纳米材料研究进展 [J]. 中国激光, 2018, 45(2): 247-256.
- [10] 苏玉培, 潘昊, 刘丹丹, 等. 基于聚多巴胺特性构建的肿瘤靶向药物递送系统的研究进展 [J]. 药学学报, 2022, 57(1): 25-35.
- [11] 刘宗光, 屈树新, 翁杰. 聚多巴胺在生物材料表面改性中的应用 [J]. 化学进展, 2015, 27(S1): 212-219.
- [12] 郝爱军, 张宁, 郭兴家, 等. EPR 作用及其在抗肿瘤大分子药物研究中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(21): 2516-2520.
- [13] Shi Y, van der Meel R, Chen X Y, *et al.* The EPR effect and beyond: Strategies to improve tumor targeting and cancer nanomedicine treatment efficacy [J]. *Theranostics*, 2020, 10(17): 7921-7924.
- [14] 张梦. 神剂蛋白纳米粒的制备及抗肿瘤研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2017.
- [15] 李玉芬, 王东凯. 聚多巴胺在肿瘤纳米药物递送中的应用 [J]. 中国药剂学杂志, 2021, 19(3): 81-86.
- [16] Jin A T, Wang Y T, Lin K L, *et al.* Nanoparticles modified by polydopamine: Working as “drug” carriers [J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(3): 522-541.
- [17] 黄剑宇, 梁启凡, 李俊松, 等. 三氧化二砷抗肿瘤作用机制及其药物递送系统的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(23): 6102-6111.
- [18] Lv M Z, Chen M X, Zhang R, *et al.* Manganese is critical for antitumor immune responses via cGAS-STING and improves the efficacy of clinical immunotherapy [J]. *Cell Res*, 2020, 30(11): 966-979.
- [19] Zhang K, Qi C, Cai K Y. Manganese-based tumor immunotherapy [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(19): e2205409.
- [20] Hou L, Tian C Y, Yan Y S, *et al.* Manganese-based nanoactivator optimizes cancer immunotherapy via enhancing innate immunity [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(4): 3927-3940.

[责任编辑 郑礼胜]