

以枸杞多糖为载体的紫杉醇纳米粒的制备及治疗乳腺癌的研究

夏宇^{1,2}, 王小欢¹, 韩美华^{2*}, 杨波^{1*}

1. 哈尔滨商业大学药学院, 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

摘要: **目的** 为了改善紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 的抗乳腺癌疗效, 以枸杞多糖 (*Lycium barbarum* polysaccharides, LBP) 为载体构建紫杉醇纳米粒 (PTX/LBP nanoparticles, PTX/LBP NPs)。 **方法** 采用反溶剂沉淀法构建 PTX/LBP NPs 并与常规载体 mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} 构建的纳米粒 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 进行比较, 动态光散射法测定其平均粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 及 ζ 电位, HPLC 法测定其载药量和包封率, 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察其外观形态, 同时考察纳米粒在不同生理介质中的粒径变化及在室温下放置稳定性以及纳米粒的体外释放情况; 采用 MTT 法考察纳米粒对 4T1 细胞的体外毒性, 4T1 荷瘤小鼠模型考察纳米粒的体内抗肿瘤作用。 **结果** PTX/LBP NPs 的粒径为 (217.8±3.2) nm, PDI 为 0.192±0.039, ζ 电位为 (-14.6±0.1) mV; 载药量和包封率分别为 13.44%和 93.53%; PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的粒径为 (221.5±2.4) nm, PDI 为 0.219±0.012, ζ 电位为 (-3.6±0.1) mV, 载药量和包封率分别为 13.02%和 93.61%; 2 种纳米粒均呈圆球形且在生理盐水、5%葡萄糖、PBS 和血浆中粒径均无明显变化, 室温下放置 7 d 仍稳定; 体外释放结果表明, 以 LBP 为载体制备的紫杉醇纳米粒表现出良好的缓释效果; 体外细胞毒性实验表明, PTX/LBP NPs 对 4T1 细胞的生长抑制作用比同质量浓度 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的更强 [半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀): 0.21 vs 0.30 μg/mL]; 体内抗肿瘤实验表明, PTX/LBP NPs 对荷瘤小鼠的抗肿瘤效果明显优于 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (抑瘤率: 70.16% vs 49.93%, $P<0.05$), 且小鼠体质量、脏器指数无明显下降。 **结论** 以 LBP 为载体构建紫杉醇纳米给药系统, 与常规载体相比, 不仅可以显著增强紫杉醇的抗肿瘤疗效, 还能降低紫杉醇治疗过程中的毒性, 为多糖纳米载体的应用提供基础。

关键词: 紫杉醇; 枸杞多糖; 纳米粒; 载体; 乳腺癌; 反溶剂沉淀法; 抗肿瘤

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)17-5812-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.17.008

Preparation of paclitaxel nanoparticles used *Lycium barbarum* polysaccharide as carrier and study on the treatment of breast cancer

XIA Yu^{1,2}, WANG Xiaohuan¹, HAN Meihua², YANG Bo¹

1. College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Objective To improve the anti-breast cancer effect of paclitaxel (PTX), *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) was used as a carrier to construct PTX/LBP nanoparticles (PTX/LBP NPs). **Methods** Antisolvent precipitation method was used to construct the PTX/LBP NPs and compared with conventional carrier mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} build nanoparticles PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs, dynamic light scattering method to determine the average particle size and dispersion index (PDI) and ζ potential, The drug loading and encapsulation efficiency of the nanoparticles were determined by HPLC, and the morphology of the nanoparticles was observed by transmission electron microscopy. The particle size changes in different physiological media, the stability of the nanoparticles at room temperature, and the release of the nanoparticles *in vitro* were investigated. MTT assay was used to evaluate the toxicity of the

收稿日期: 2024-03-20

基金项目: 中国医学科学院医学与健康创新工程 (2021-I2M-1-071)

作者简介: 夏宇 (1999—), 男, 硕士研究生, 从事脂溶性药物纳米给药系统的构建。E-mail: xy1175154313@163.com

*通信作者: 韩美华, 女, 研究员, 博士生导师, 从事纳米给药系统的研究。Tel: 13366389197 E-mail: hanmeihua727@163.com

杨波, 男, 教授, 从事药物制剂制备及其有效成分研究。Tel: 13936497079 E-mail: 346937530@qq.com

nanoparticles on 4T1 cells *in vitro*, and the anti-tumor effect of the nanoparticles *in vivo* was evaluated in 4T1 tumor-bearing mice model. **Results** The size of PTX/LBP NPs was (217.8 ± 3.2) nm, PDI was 0.192 ± 0.039 , ζ potential was (-14.6 ± 0.1) mV, drug loading and encapsulation rate were 13.44% and 93.53%. The particle size of PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs was (221.5 ± 2.4) nm, PDI was 0.219 ± 0.012 , ζ potential was (-3.6 ± 0.1) mV, drug loading and encapsulation rate were 13.02% and 93.61%, respectively. Both nanoparticles were spherical in shape and showed no significant changes in size in saline, 5% glucose, PBS and plasma, and remained stable for 7 d at room temperature. The *in vitro* release results showed that the paclitaxel nanoparticles prepared with LBP showed a good sustained release effect. *In vitro* cytotoxicity experiments showed that PTX/LBP NPs had a stronger inhibitory effect on the growth of 4T1 cells than PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs at the same concentration (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀: 0.21 vs 0.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$). *In vivo* anti-tumor experiments showed that the anti-tumor effect of PTX/LBP NPs on breast cancer was significantly better than that of PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (tumor inhibition rate: 70.16% vs 49.93%, $P < 0.05$), in addition, the body weight and viscera index of mice did not decrease significantly. **Conclusion** The construction of a paclitaxel nanodrug delivery system used LBP as carrier for the treatment of breast cancer, which not only significantly enhanced the anti-tumor efficacy of paclitaxel, but also reduced the systemic toxicity during the treatment of paclitaxel, providing a theoretical basis for the application of polysaccharide nanocarriers. **Key words:** paclitaxel; *Lycium barbarum* polysaccharide; nanoparticles; carrier; breast cancer; antisolvent precipitation method; anti-tumor

乳腺癌是全球女性最常被检查出的癌症^[1], 近年来乳腺癌发病率逐年增加^[2-5], 2020年乳腺癌已超过肺癌成为全球发病率最高的癌症^[6], 是全球癌症死亡的主要原因之一。紫杉醇 (paclitaxel) 作为应用最成功的天然广谱抗癌药物之一^[7-8], 被广泛应用于乳腺癌、结肠癌等癌症的治疗。尽管紫杉醇存在水溶性差、高毒性且生物利用度低等问题, 使其在临床应用上的治疗效果受限。但随着生物学纳米技术和生物材料的快速发展^[9-11], 用纳米尺寸载体包封药物能有效地解决整个药物输送过程中遇到的许多问题, 如改善药物水溶性、化学稳定性、有效性和安全性和减轻相关副作用^[12-15]。但常规纳米载体制剂的抗肿瘤作用与普通紫杉醇注射剂相比没有明显改善^[16-18], 故研究者们尝试开发新的纳米载体, 合理设计更高效的紫杉醇纳米药物从而解决现有的问题和挑战。

多糖是一类重要的天然生物高分子, 具有良好的生物相容性和生物降解性, 被广泛应用于纳米药物的构建^[19-21]。枸杞多糖 (*Lycium barbarum* polysaccharides, LBP) 来源于我国传统药食同源植物枸杞 *Lycium barbarum* L. 中, 是枸杞的主要生物活性成分之一, 具有抗肿瘤、免疫调节等活性^[22-23], 可诱导细胞死亡并抑制乳腺癌细胞的增殖^[24-25]。有研究表明, LBP 与化疗药物联用具有良好的增效减毒作用^[26-28], 这些发现为 LBP 在乳腺癌复合治疗中的应用提供了参考。故本研究以 LBP 为载体构建紫杉醇纳米粒, 并与常规载体甲氧基聚乙二醇 2K-聚乳酸右旋 2K (mPEG_{2K}-PDLLA_{2K}) 制备的纳米粒对比, 考察二者的抗肿瘤效果与不良反应, 以期 LBP

在纳米给药系统构建方面的应用提供新理论依据。

1 仪器和材料

Master-D 型实验室超纯水仪, 上海和泰仪器有限公司; AL204 型电子天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; N-3000 型旋转蒸发仪, 上海爱朗仪器有限公司; KQ3200DB 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; UltiMate3000 型高效液相色谱仪和紫外检测器, 美国戴安仪器公司; Zetasizer Nano-ZS 型纳米粒径电位分析仪, 英国马尔文仪器有限公司; HC-3618R 型高速冷冻离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; JEM-1400 80KV 型透射电子显微镜 (TEM), 日本电子株式会社; RCT Basicx 型恒温磁力搅拌器, 德国 IKA 公司; Thermo 311 型二氧化碳培养箱, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Alpha 2-4 LD plus 型真空冷冻干燥机, 德国 Christ 公司; HH-1A 型电热恒温水浴锅, 北京科伟永兴仪器有限公司; CKX31SF 型光学显微镜, 日本 Olympus 公司; Tecan infinite M200 Pro 型多功能酶标仪, 瑞士 Tecan 公司。

紫杉醇, 质量分数 $\geq 98\%$, 上海迈瑞尔生化科技有限公司; LBP, 质量分数 $\geq 50\%$, 上海金穗生物科技有限公司; 维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯 (TPGS), 西安海斯夫生物科技有限公司; 泊洛沙姆 188 (P188), 上海西格玛奥德里奇贸易有限公司; 甲氧基聚乙二醇 2K-聚己内酯 2K (mPEG_{2K}-PCL_{2K}), 甲氧基聚乙二醇 2K-聚乳酸右旋 2K (mPEG_{2K}-PDLLA_{2K}), 济南岱罡生物工程有限公司; 紫杉醇注射液, 批号 220801, 北京协和药厂; 磷酸盐缓冲液 (PBS) 干粉, 北京酷来搏科技有限公司; 3-(4,5-二

甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT),北京索莱宝科技有限公司;小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒、小鼠 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ) ELISA 试剂盒,北京宝如亿生物技术有限公司;色谱乙腈,赛默飞世尔科技有限公司;实验用水为去离子水,其余试剂或药品均为分析纯。

4T1 乳腺癌细胞株,北京协和医学院基础所细胞中心;6~8 周龄的 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠,体质量(20 \pm 2) g,购自北京斯贝福生物技术有限公司,合格证号 SYXK(京)2023-0008。动物实验由中国医学科学院药用植物研究所 IMPLAD 伦理委员会批准,批准号 SLXD-2023625018。

2 方法与结果

2.1 紫杉醇纳米粒的制备

实验所用 LBP 为市售具有中等相对分子质量(4.0 \times 10⁴~3.50 \times 10⁵)的多糖部分,其质量分数为 50%,文献报道该相对分子质量区间的 LBP 是抗肿瘤活性的主要部分^[29],纳米粒具体制备方法如下。

将 5 mg 的紫杉醇溶于 0.5 mL 丙酮中,在超声条件下(250 W)缓慢滴入含 20 mg 载体 LBP(即药载比为 1:4)和 1 mg 稳定剂 mPEG_{2K}-mPDLLA_{2K}(即药物与稳定剂的比例为 5:1)的 5 mL 去离子水中,45 °C 减压旋蒸除去丙酮,得到以枸杞多糖包载的紫杉醇纳米粒(PTX/LBP NPs)溶液。

再按上述方法和比例,用常规载体 mPEG_{2K}-mPDLLA_{2K}(21 mg)制备无 LBP 的 PTX/mPEG_{2K}-mPDLLA_{2K} NPs 作为对照,与 PTX/LBP NPs 进行比较,考察二者的抗肿瘤疗效与毒性作用。

2.2 单因素实验考察

以粒径、多分散指数(polydispersity index, PDI)及 ζ 电位为评价指标,从药载比(1:2、1:3、1:4、1:5)、稳定剂种类(P188、TPGS、mPEG_{2K}-PCL_{2K}、mPEG_{2K}-mPDLLA_{2K})、稳定剂用量(0.5、1.0、1.5、2.0 mg)及超声功率(150、200、250、300 W)4 个方面对“2.1”项下的 PTX/LBP NPs 处方工艺进行单因素考察。

2.2.1 药载比 按“2.1”项下方法条件分别以药载比 1:2、1:3、1:4、1:5 制备 PTX/LBP NPs,由表 1 可知,随着药载比增加到 1:4 时,纳米粒的粒径及 PDI 最小,继续增大药载比时纳米粒粒径反而增大,故按药载比 1:4 进行后续实验。

2.2.2 稳定剂种类 尝试以 P188、TPGS、mPEG_{2K}-

PCL_{2K} 和 mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} 为稳定剂按“2.1”项下方法条件制备纳米粒,由表 2 可知, mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} 为稳定剂制备的 PTX/LBP NPs 粒径及 PDI 最小,故后续选择 mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} 为稳定剂制备 PTX/LBP NPs。

表 1 药载比的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of drug to carrier dosage ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

药载比	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
1:2	541.6 \pm 33.7	0.300 \pm 0.052	-11.4 \pm 0.6
1:3	229.7 \pm 3.2	0.230 \pm 0.032	-14.4 \pm 0.5
1:4	217.6 \pm 5.9	0.185 \pm 0.018	-14.8 \pm 0.1
1:5	236.4 \pm 5.2	0.220 \pm 0.036	-15.3 \pm 0.9

表 2 稳定剂的种类筛选 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Screening of stabilizer types ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

稳定剂	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
P188	306.7 \pm 6.6	0.268 \pm 0.034	-15.8 \pm 0.8
TPGS	264.7 \pm 1.5	0.201 \pm 0.004	-12.9 \pm 0.5
mPEG _{2K} -PCL _{2K}	273.7 \pm 0.9	0.223 \pm 0.015	-13.9 \pm 0.2
mPEG _{2K} -PDLLA _{2K}	223.9 \pm 4.2	0.181 \pm 0.023	-15.2 \pm 1.0

2.2.3 稳定剂用量 以 mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} 为稳定剂,分别按 0.5、1.0、1.5、2.0 mg 的用量,以“2.1”项下方法条件制备纳米粒,由表 3 可知,当稳定剂用量为 1.0 mg 时,粒径及 PDI 最小,较少的稳定剂用量就能使得纳米粒粒径均一且稳定,故后续实验按 1.0 mg(即药物与稳定剂的比例为 5:1)的稳定剂用量进行研究。

表 3 稳定剂用量考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Investigation on dosage of stabilizer ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

稳定剂用量/mg	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
0.5	840.2 \pm 38.6	0.233 \pm 0.072	-18.2 \pm 1.1
1.0	216.7 \pm 2.4	0.185 \pm 0.050	-13.0 \pm 1.2
1.5	220.2 \pm 4.6	0.233 \pm 0.072	-14.0 \pm 1.1
2.0	216.3 \pm 6.6	0.268 \pm 0.034	-15.1 \pm 1.0

2.2.4 超声功率 分别在 150、200、250、300 W 的超声条件下,按“2.1”项下方法条件制备 PTX/LBP NPs,由表 4 可知,随着超声功率的增大,纳米粒的粒径及 PDI 也随之减小,当超声功率达到 250 W 时,纳米粒的粒径及 PDI 最小,继续增大超声功率粒径及 PDI 无显著变化,故后续实验在 250 W 的超声条件下制备 PTX/LBP NPs。

综上所述,通过稳定剂种类、稳定剂用量、药载比及超声功率 4 个方面的单因素考察对 PTX/LBP

表4 超声功率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effects of ultrasound power ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

超声功率/W	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
150	655.9±51.6	0.191±0.076	-4.7±0.2
200	492.8±10.9	0.244±0.018	-8.4±0.7
250	219.5±6.5	0.175±0.031	-14.6±0.1
300	223.7±4.6	0.233±0.021	-14.1±0.3

NPs 进行处方筛选优化, 得出纳米粒的最优处方, 即在 250 W 超声条件下, 以 LBP 为载体按 1:4 的药载比包载紫杉醇, 选用 mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} 为稳定剂按 1.0 mg 的用量 (即药物与稳定剂的比例为 5:1) 制备 PTX/LBP NPs。

2.3 紫杉醇纳米粒的表征

2.3.1 粒径、PDI 与 ζ 电位表征 取制备好的纳米粒溶液, 基于动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 的原理, 利用 Zetasizer Nano-ZS 马尔文粒径电位分析仪, 来测定 PTX/LBP NPs 粒径、PDI 以及 ζ 电位, 每个样品重复测定 3 次。结果 PTX/LBP NPs 的粒径和 PDI 分别为 (217.8±3.2) nm 和 0.192±0.039 (图 1-A), ζ 电位为 (-14.6±0.1) mV; PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的粒径和 PDI 分别为 (221.5±2.4) nm 和 0.219±0.012 (图 1-B), ζ 电位

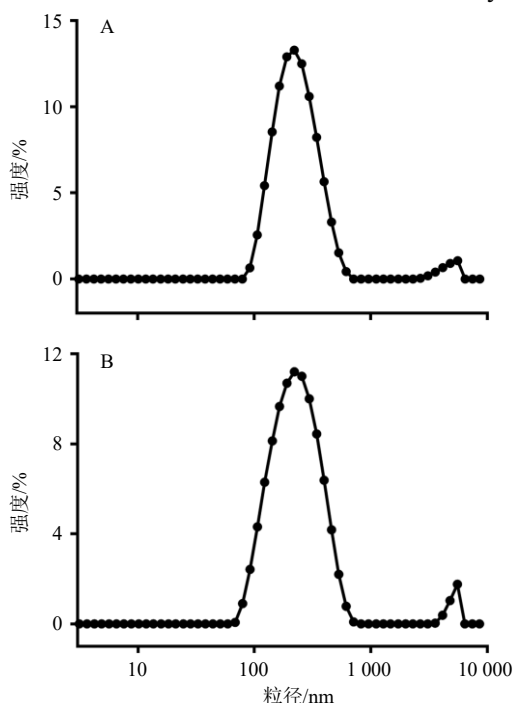


图1 PTX/LBP NPs (A) 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (B) 的粒径分布图 ($n = 3$)

Fig. 1 Size distribution of PTX/LBP NPs (A) and PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (B) ($n = 3$)

为 (-3.6±0.1) mV。2 组纳米粒粒径较小, PDI 分布较窄, 因此在水中的分散性更好。

2.3.2 载药量和包封率的测定 取制备好的纳米粒溶液 1 mL, 冷冻干燥, 精确称量冻干粉的质量为 W 。将冻干粉用 1 mL 色谱甲醇溶解, 涡旋, 13 000 r/min 离心 (离心半径 8.3 cm) 30 min, 取上清液进行 HPLC 分析, 换算得到 1 mL 纳米粒溶液中所含的药物总质量 (W_t); 另取纳米粒溶液 0.4 mL 于超滤离心管 (截留相对分子质量 10 000) 中, 以 13 000 r/min 离心 30 min, 取滤液进行 HPLC 分析, 换算得到 1 mL 纳米粒溶液中游离药物质量 (W_f)。按照下述公式计算 PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的载药量和包封率。结果 PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的载药量分别为 13.44% 和 13.02%, 包封率分别为 93.53% 和 93.61%, 表明大部分紫杉醇均已被包封。综上证明 “2.1” 项下的制备方法对紫杉醇的利用率较高且得到纳米制剂质量较好。

$$\text{包封率} = (W_t - W_f) / W_t$$

$$\text{载药量} = (W_t - W_f) / W$$

2.3.3 纳米粒外观形态观察 PTX/LBP NPs 外观呈浅棕色, PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 外观呈淡白色, 均未观察到不溶性颗粒或沉淀 (图 2)。

采用 TEM 观察纳米粒的形态, 将纳米粒溶液稀释后滴到 300 目的测量铜网上, 室温风干, 再用

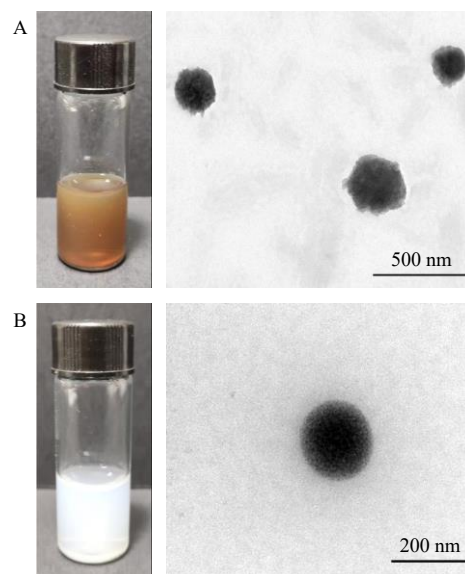


图2 PTX/LBP NPs (A) 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (B) 的实物图和 TEM 图

Fig. 2 Actual photos and TEM photos of PTX/LBP NPs (A) and PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (B)

2%磷钨酸染液复染，自然晾干，于 120 kV 的加速电压下通过 TEM 观察纳米粒的形态。由图 2 可知，在 TEM 下，2 种纳米粒均呈现为大小均一的圆球形，PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 较 PTX/LBP NPs 的外形更加圆整，分析原因可能是所用 LBP 并不是均一多糖，存在不同相对分子质量大小的 LBP，导致制备的 PTX/LBP NPs 圆球外形不如 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 规则。

2.3.4 放置稳定性考察 取制备好的纳米粒，在室温下条件放置 7 d，期间每天取样测定粒径和 PDI 以考察其放置稳定性。结果 PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 在室温条件下放置 7 d 的粒径变化如表 5 所示，二者的粒径均无明显增加，且 PDI 一直小于 0.3，整个过程二者均没有浑浊、聚集或沉淀等现象产生，表明 2 种纳米粒有良好的放置稳定性。

2.3.5 介质稳定性考察 将制备好的纳米粒分别与等体积的 1.8%氯化钠溶液、10%葡萄糖溶液、2 倍体积的 PBS (pH 7.4) 和 4 倍体积的血浆混合，测定粒径，记为 0 h 的初始粒径，37 °C 孵育，分别于

2、4、6、8、10、12 h 取样测定纳米粒的粒径和 PDI，同时观察有无浑浊、沉淀等现象。结果 PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 在生理盐水、葡萄糖、PBS 和血浆中均稳定，12 h 内均没有出现浑浊或沉淀现象，粒径也没有显著增加 (表 6)。

2.3.6 体外释放实验 将紫杉醇注射液、PTX/LBP

表 5 PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的放置稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Storage stability of PTX/LBP NPs and PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

t/d	PTX/LBP NPs		PTX/mPEG _{2K} -PDLLA _{2K} NPs	
	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI
0	217.8±3.2	0.219±0.012	221.5±2.3	0.219±0.012
1	218.8±2.9	0.203±0.016	218.4±3.9	0.173±0.026
2	214.9±2.3	0.181±0.036	218.1±3.4	0.237±0.051
3	214.3±3.7	0.200±0.035	221.6±3.4	0.228±0.040
4	214.0±1.9	0.235±0.022	223.0±2.6	0.227±0.047
5	212.0±3.8	0.254±0.050	224.8±1.6	0.175±0.036
6	214.1±1.8	0.168±0.036	218.3±4.3	0.228±0.027
7	214.5±2.8	0.241±0.022	218.3±3.1	0.229±0.042

表 6 PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 在各种介质中的粒径变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Particle size change of PTX/LBP NPs and PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs in various media ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

t/h	PTX/LBP NPs 粒径/nm				PTX/mPEG _{2K} -PDLLA _{2K} NPs 粒径/nm			
	0.9% NaCl	5% 葡萄糖	PBS	血浆	0.9% NaCl	5% 葡萄糖	PBS	血浆
0	225.6±2.2	226.2±3.4	224.2±1.9	187.8±6.1	228.5±2.3	236.3±4.0	224.4±2.7	188.7±5.9
2	220.7±6.0	224.8±3.6	218.8±2.6	185.1±4.1	226.7±3.9	231.9±3.3	213.5±4.0	192.7±4.3
4	221.2±2.3	230.7±2.9	226.8±2.8	197.4±5.0	230.1±2.2	237.9±1.8	208.4±1.7	217.8±5.1
6	222.7±2.6	228.4±3.6	219.1±4.1	198.8±4.8	230.9±2.2	238.8±3.8	208.1±2.4	198.3±3.4
8	218.9±2.3	232.6±1.3	227.9±3.4	209.1±2.8	232.4±2.8	241.7±3.9	201.9±2.3	222.7±3.6
10	208.5±2.8	228.2±4.4	223.8±2.8	196.5±4.5	221.1±2.9	230.6±3.4	204.5±3.1	187.1±3.2
12	203.7±2.4	231.1±2.0	223.2±3.7	186.1±7.4	228.3±3.0	233.1±2.5	207.6±1.6	188.1±1.4

NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 溶液 (紫杉醇, 1 mg/mL) 分别各取 2 mL 于透析袋 (截留相对分子质量 8 000~14 000) 中，放入 50 mL 的含有 2% 聚氧乙烯蓖麻油的 PBS 溶液中 (pH 7.2~7.4)，37 °C 水浴孵育，转速为 300 r/min 透析。在不同时间点下，取 1 mL 释放外液，同时补充等体积的新鲜释放介质，且每隔 24 h 更换 1 次释放外液。通过 HPLC 分析释放外液中紫杉醇含量来计算各纳米制剂的累积释放率。每个样品平行实验 3 次。

结果发现紫杉醇注射液、PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 在 PBS 中的体外释放如图 3

所示。紫杉醇注射液中的紫杉醇释放极为迅速，12 h 内累积释放率便达到 86.62%。PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 则表现为两相释放的形式，12 h 内先是快速释放 (累积释放率达到 39.17%)，随后相对缓慢的持续释放药物 (144 h 累积释放率达到 66.88%)。而相同条件下，以 LBP 为载体制备的 PTX/LBP NPs 在整个释放过程中稳定缓释药物，144 h 累积释放率达到 77.24%。据文献报道^[30]，基于天然植物多糖构建的纳米粒可以提高难溶性药物的溶解度，实现药物的缓释，本实验结果与之相符。可见与常规载体相比，LBP 加载的紫杉醇纳米粒表现

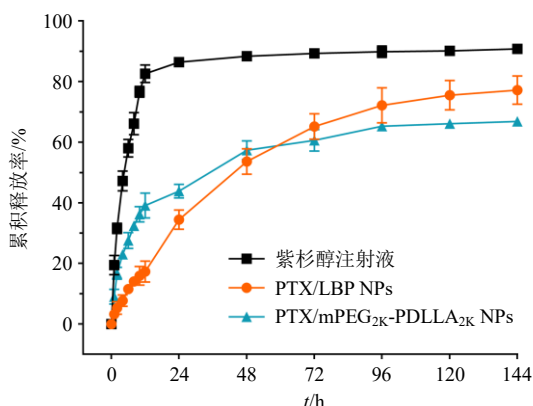


图3 紫杉醇注射液、PTX/LBP NPs 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 *In vitro* drug release profiles of paclitaxel injection, PTX/LBP NPs and PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

出良好的缓释效果, 有利于延长药物作用时间, 减轻药物不良反应。

2.4 体外细胞毒性考察

采用 MTT 法检测紫杉醇、PTX/LBP NPs、PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的体外细胞毒性。将处于对数生长期的 4T1 细胞以 8 000 个/孔的浓度接种于 96 孔板, 在 37 °C、5% CO₂ 培养条件下培养 24 h。将 RPMI 1640 不完全培养基设为空白对照。

加入 RPMI 1640 培养基稀释的不同质量浓度的紫杉醇注射液 (0.05~100.00 μg/mL)、2 种载药纳米粒 (0.01~100.00 μg/mL), 每孔 200 μL (每组平行 6 个复孔)。共孵育 72 h 后, 每孔加入 MTT 溶液 (20 μL, 5 mg/mL) 处理 4T1 细胞, 继续孵育 4 h。最后, 每孔加入 200 μL 的 DMSO 溶解震荡 20 min, 用多功能微孔板检测仪于 570 nm 下测定每孔吸光度 (*A*) 值。

根据如下公式计算出细胞抑制率, 然后用 Graphpad Prism 9.0 拟合出药物的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) 曲线, 并计算其 IC₅₀ 值。

$$\text{细胞抑制率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

MTT 法测定结果如图 4 所示, 紫杉醇注射液的 IC₅₀ 值为 1.41 μg/mL, PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 的 IC₅₀ 值为 0.30 μg/mL, PTX/LBP NPs 的 IC₅₀ 值为 0.21 μg/mL。PTX/LBP NPs 较紫杉醇注射液提高了 6.6 倍, 说明将紫杉醇制备成纳米粒可以有效改善其体外抗肿瘤效果。与 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 相比, PTX/LBP NPs 对 4T1 细胞的生长抑制作用更强,

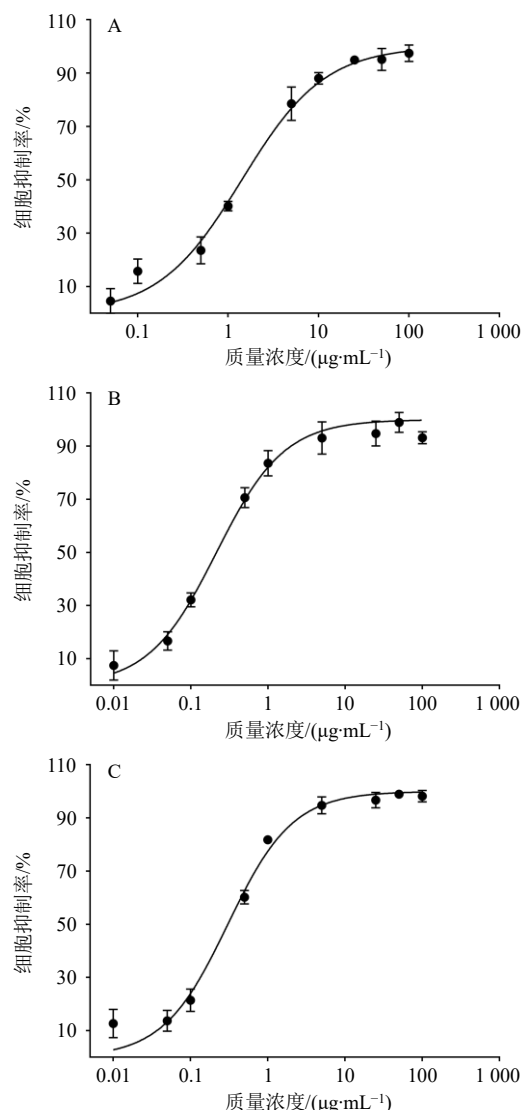


图4 紫杉醇注射液 (A)、PTX/LBP NPs (B) 和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (C) 对 4T1 细胞的生长抑制曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Cytotoxicity of paclitaxel injection (A), PTX/LBP NPs (B) and PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (C) in 4T1 cell lines ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

除 LBP 自身的抗肿瘤活性外, 还可能是 LBP 增强了肿瘤细胞对药物的摄取能力^[24,31]。

2.5 体内抗肿瘤活性研究

采用 4T1 荷瘤小鼠模型评价体内抗肿瘤活性。选用体质量为 (20±2) g 的 6 周龄左右 Balb/c 小鼠, 自适应饲养 1 周后, 小鼠右腋 sc 0.2 mL 的 4T1 细胞悬 (1×10⁶ 个细胞)。当肿瘤平均体积达 100 mm³ 时, 将 4T1 荷瘤小鼠根据瘤体积随机分为 4 组, 每组 6 只。分别 iv 生理盐水 0.2 mL (阴性对照组)、紫杉醇注射液 (阳性对照组, 8 mg/kg 的紫杉醇)、PTX/LBP NPs (8 mg/kg 的紫杉醇, 32 mg/kg 的

LBP)、PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs (8 mg/kg 的紫杉醇)。除正常饮食外,上述各组荷瘤鼠隔 2 天尾 iv 给药,共给药 5 次。整个实验过程中每隔 2 天观察小鼠状态,监测每只小鼠的体质量变化,并测量小鼠肿瘤体积。肿瘤体积 (V) = LW²/2, 其中 L 为瘤组织的最大直径, W 为最小直径。实验结束后,小鼠眼球取血于干净的离心管中,2 500 r/min 离心(离心半径 8.3 cm) 5 min,分离血清和血细胞,利用 ELISA 试剂盒进行血清肿瘤细胞因子 TNF-α 和 IFN-γ 的测定。之后处死小鼠,剖取小鼠的肿瘤、心、肝、脾、肺和肾称定质量,按下面公式计算肿瘤抑制率及各脏器指数。

肿瘤抑制率 = 1 - 肿瘤质量/生理盐水组肿瘤质量

脏器指数 = 脏器质量/小鼠体质量

由小鼠肿瘤体积变化(表 7)可知,生理盐水组

肿瘤生长迅速,15 d 内瘤体积达 1 601.90 mm³;紫杉醇注射液组和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组的小鼠肿瘤生长速度较慢,瘤体积分别为 959.23 mm³ 和 813.96 mm³ (与生理盐水组相比, P < 0.05), PTX/LBP NPs 肿瘤体积更小,为 483.65 mm³ (与生理盐水组相比, P < 0.01),明显小于 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组 (P < 0.05),表明 LBP 作载体可以有效改善紫杉醇的肿瘤抑制作用。

小鼠的体质量变化(表 7),15 d 内,生理盐水组小鼠体质量虽有起伏,总体上略有增长;紫杉醇注射液组、PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组和 PTX/LBP NPs 组在前 6 d 体质量均有增加,但之后紫杉醇注射液组和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组体质量便开始明显下降;而 PTX/LBP NPs 组到第 9 天后体质量才开始下降,且到第 15 天时体质量要略高于

表 7 给药期间 4 组小鼠的肿瘤体积和体质量变化 (x̄ ± s, n = 6)

Table 7 Tumor volume change of four groups of mice during dosing period (x̄ ± s, n = 6)

组别	瘤体积/mm ³					
	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
生理盐水	147.65 ± 107.41	257.57 ± 157.23	461.81 ± 194.85	770.59 ± 290.78	1 137.11 ± 331.29	1 601.90 ± 451.62
紫杉醇注射液	144.39 ± 51.99	189.59 ± 108.54	354.20 ± 148.90	594.75 ± 255.53	856.47 ± 316.07	959.23 ± 303.78*
PTX/mPEG _{2K} -PDLLA _{2K} NPs	163.76 ± 54.65	219.32 ± 166.3	283.16 ± 151.06	463.38 ± 379.19	685.56 ± 289.22	813.96 ± 315.28**
PTX/LBP NPs	154.71 ± 33.31	199.43 ± 85.00	224.61 ± 83.07	368.48 ± 127.14	442.71 ± 201.76	483.65 ± 294.77**#

组别	体质量/g					
	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
生理盐水	20.56 ± 0.48	21.16 ± 0.45	22.51 ± 0.90	21.99 ± 1.38	22.20 ± 1.49	22.01 ± 1.45
紫杉醇注射液	20.22 ± 0.84	21.22 ± 1.35	21.93 ± 1.40	21.45 ± 1.50	20.83 ± 1.61	19.33 ± 2.03
PTX/mPEG _{2K} -PDLLA _{2K} NPs	20.12 ± 0.88	21.20 ± 1.08	21.96 ± 1.14	21.19 ± 1.11	20.55 ± 1.59	19.75 ± 2.22
PTX/LBP NPs	20.40 ± 1.68	21.07 ± 1.43	21.84 ± 1.35	22.11 ± 1.65	21.90 ± 1.90	20.67 ± 1.94

与生理盐水组比较: *P < 0.05 **P < 0.01; 与紫杉醇注射液组比较: #P < 0.05。

*P < 0.05 **P < 0.01 vs normal saline; #P < 0.05 vs paclitaxel injection.

PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组,这表明 LBP 载体可以减小紫杉醇的全身毒性。

实验结束时剖取肿瘤称定质量并拍照,其实物结果如图 5 所示,可以看出 PTX/LBP NPs 组的肿瘤最小。根据瘤质量计算肿瘤抑制率(表 8),紫杉醇注射液组抑瘤率为 41.07%,PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组抑瘤率为 49.93%,与注射液相比抑瘤率没有较大提升 (P > 0.05); PTX/LBP NPs 组的抑瘤率为 70.16%,抗肿瘤效果显著提升(与紫杉醇注射液组和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组比较, P < 0.05),表明 LBP 作为载体由于其自身抗肿瘤和免疫调节活性的确可以增强紫杉醇的抗肿瘤效果。

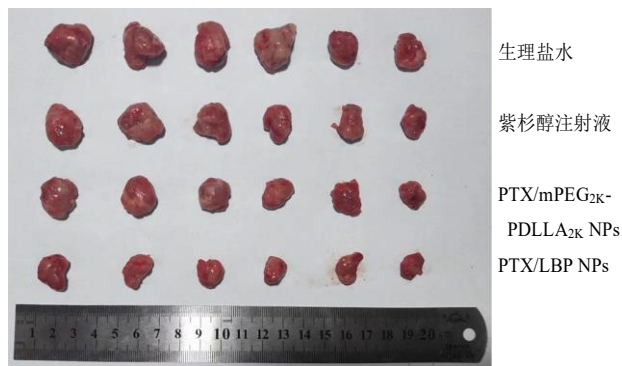


图 5 实验结束时各组小鼠肿瘤实物图

Fig. 5 Actual photo of solid tumors collected for all groups at the end of experiment

表 8 实验结束时各组荷瘤小鼠的肿瘤体积、瘤质量、抑瘤率和血清中 TNF- α 、IFN- γ 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 8 Tumor volume, tumor weight, tumor inhibition rate and serum TNF- α and IFN- γ contents for all groups at the end of experiment ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	瘤体积/mm ³	瘤质量/g	抑瘤率/%	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)
生理盐水	1 601.90±451.62	1.87±0.66	—	73.79±8.05	80.21±14.81
紫杉醇注射液	959.23±303.78*	1.13±0.32*	41.07±15.63	101.05±12.63**	87.81±8.17
PTX/mPEG _{2K} -PDLLA _{2K} NPs	813.96±315.28**	0.95±0.25**	49.93±12.94	94.07±11.27*	92.37±15.66
PTX/LBP NPs	483.65±294.77**#	0.55±0.18**#	70.16±9.87#	99.40±7.74**	108.48±10.97**#

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与紫杉醇注射液组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs normal saline; # $P < 0.05$ vs paclitaxel injection.

TNF- α 可诱导肿瘤组织的细胞发生出血性坏死, IFN- γ 具备抗肿瘤和免疫调控作用, 2 细胞因子的表达量越高, 意味着药物对肿瘤细胞的杀伤作用越强^[32]。由表 8 可知, 紫杉醇注射液组和 2 纳米粒组的 TNF- α 表达水平平均高于生理盐水组($P < 0.05$), PTX/LBP NPs 组的 IFN- γ 表达水平相较于生理盐水组及紫杉醇注射液组存在显著性差异 ($P < 0.05$), 且高于 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组的 IFN- γ 表达量。PTX/LBP NPs 组 TNF- α 和 IFN- γ 的高表达意味着该制剂能较好的抑制肿瘤细胞的增殖。

脏器指数是毒理实验中的常用指标, 此法操作简便且较为敏感, 当药物对小鼠脏器造成损伤时, 受损脏器的质量便发生变化, 而脏器指数也随之改变, 故可通过小鼠的脏器指数评价药物的安全性。如表 9 所示, 各组小鼠的心、肝、肺及肾指数均与生理盐水组无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明紫杉醇 8 mg/kg 的给药剂量对小鼠的心、肝、肺和肾均无明显损伤; 紫杉醇注射液组和 PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 组的脾指数与生理盐水组比较存在显著性差异 ($P < 0.05$), 而 PTX/LBP NPs 组与生理盐水组比较

表 9 实验结束时各组小鼠的脏器指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 9 Viscera index for all groups at the end of experiment ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	心脏指数/%	肝脏指数/%	脾脏指数/%	肺脏指数/%	肾脏指数/%
生理盐水	0.537±0.034	7.146±0.865	4.117±0.439	0.937±0.149	1.552±0.119
紫杉醇注射液	0.599±0.053	7.002±0.626	3.299±0.593	0.990±0.129	1.535±0.108
PTX/mPEG _{2K} -PDLLA _{2K} NPs	0.510±0.054	7.294±0.726	3.317±0.462	0.875±0.089	1.476±0.089
PTX/LBP NPs	0.603±0.091	7.797±0.591	3.957±0.645	0.879±0.099	1.587±0.072

无明显差异 ($P > 0.05$), 这表明紫杉醇在给药剂量范围内对脾有一定毒性, 而 LBP 可以减弱其对脾脏的损伤, 这与小鼠的体质量变化相符。

3 讨论

化疗耐药是传统癌症治疗中的一个主要问题, 长期使用紫杉醇会导致肿瘤细胞的获得性耐药增加, 从而导致化疗失败^[33], 这是乳腺癌患者化疗后死亡的主要原因^[34-35]。而研究表明, 肿瘤细胞化疗耐药增加的同时也发展出对铁死亡易感性的机制^[36], 诱导铁死亡可逆转肿瘤的化疗耐药^[37], 使用天然化合物药理学触发耐药癌症铁死亡具有增强化疗疗效的巨大潜力^[38]。有研究表明, LBP 除具有良好的抗肿瘤和免疫调节活性外, 本身也是一种新型的铁死亡诱导剂^[24], 可通过调节 xCT/GPX4 通路, 有效抑制乳腺癌细胞增殖, 促进铁死亡。故本研究采用反

溶剂沉淀法, 以 LBP 为载体将抗肿瘤药物紫杉醇进行包载, 利用其作为天然生物大分子具有生物相容性的固有优势^[39], 制备出 PTX/LBP NPs, 逆转紫杉醇的肿瘤耐药, 显著改善紫杉醇的乳腺癌疗效, 同时还有效的减轻紫杉醇的不良反应。

PTX/LBP NPs 平均粒径大约为 217.8 nm, 分布窄, TEM 下为圆球形, 在各种生理介质中稳定, 且放置 7 d 粒径无明显变化。PTX/LBP NPs 经体内药效学验证, 与常规载体制备的纳米粒相比, PTX/mPEG_{2K}-PDLLA_{2K} NPs 更显著的提高紫杉醇的抗肿瘤作用。此外, 在整个动物实验过程中, PTX/LBP NPs 组体质量只是略有下降, 脏器指数显示对小鼠无显著毒性, 说明 LBP 作载体的同时也发挥了减毒作用。除本研究使用的 LBP 载体外, 紫杉醇常用的天然生物大分子纳米载体有壳聚糖、透明质酸、白

蛋白等。如 Yang 等^[40]采用壳聚糖构建的 pH 敏感乙二醇壳聚糖紫杉醇纳米粒 (PTX/GCNP), 其载药量和包封率分别为 7.8% 和 85.4%, 抑瘤率为 69.40%, 尽管和本实验中 PTX/LBP NPs 的抑瘤率 (70.16%) 相当, 但载药量和包封率均低于本实验中 PTX/LBP NPs 的载药量 (13.44%) 和包封率 (93.53%)。Yang 等^[41]利用透明质酸类脂包被的复合纳米粒协同靶向递送紫杉醇和姜黄素以增强对乳腺癌的疗效, 其抑瘤率为 67.5%, 也略低于 PTX/LBP NPs 的抑瘤率。Chen 等^[42]构建的紫杉醇棕榈酸酯白蛋白纳米颗粒 (Nab-PTX-PA) 高剂量给药下抑瘤率为 67.17%, 对乳腺癌的抑制效果要弱于 PTX/LBP NPs。尽管有文献报道^[43-44]对这类常用天然生物大分子载体进行一系列化学修饰后, 所制备的紫杉醇纳米粒乳腺癌疗效优于 PTX/LBP NPs, 但这也使得纳米粒的制备工艺复杂化。LBP 作为天然植物多糖也具有相对稳定的化学性质、较大的化学修饰潜力等优点, 这使得 LBP 经类似的化学修饰后再构建紫杉醇纳米制剂也能达到相同甚至更好的抗肿瘤效果。

综上所述, 以 LBP 为载体包封紫杉醇制备的 PTX/LBP NPs, 制备工艺简单, 利用 LBP 载体的抗肿瘤活性、免疫调节活性、生物相容性和诱导肿瘤细胞铁死亡等特性, 不仅可以显著增强紫杉醇的抗肿瘤疗效, 还能降低紫杉醇治疗过程中的毒性。以 LBP 为载体构建紫杉醇纳米给药系统治疗乳腺癌是一种很有前景的方法, 将中药成分与化疗药物相结合, 达到增强抗肿瘤疗效和降低毒性的目的, 为癌症的治疗提供一种选择。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Heer E, Harper A, Escandor N, et al. Global burden and trends in premenopausal and postmenopausal breast cancer: A population-based study [J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(8): e1027-e1037.
- [2] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [3] Siegel R L, Miller K D, Fuchs H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.
- [4] Siegel R L, Miller K D, Fuchs H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [5] Siegel R L, Miller K D, Wagle N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. *CA-Cancer J Clin*, 2023, 73(1): 17-48.
- [6] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [7] Zhu L Y, Chen L Q. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 40.
- [8] 王高兴, 谭鑫, 吕雨桐, 等. 康力欣胶囊联合紫杉醇 (白蛋白结合型) 治疗 Her-2 阴性晚期乳腺癌的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(10): 2542-2546.
- [9] Song W T, Anselmo A C, Huang L. Nanotechnology intervention of the microbiome for cancer therapy [J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14(12): 1093-1103.
- [10] Goldberg M S. Improving cancer immunotherapy through nanotechnology [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(10): 587-602.
- [11] Jain V, Kumar H, Anod H V, et al. A review of nanotechnology-based approaches for breast cancer and triple-negative breast cancer [J]. *J Control Release*, 2020, 326: 628-647.
- [12] Shan X Z, Li S M, Sun B J, et al. Ferroptosis-driven nanotherapeutics for cancer treatment [J]. *J Control Release*, 2020, 319: 322-332.
- [13] Wang Y Q, Li S M, Wang X H, et al. Smart transformable nanomedicines for cancer therapy [J]. *Biomaterials*, 2021, 271: 120737.
- [14] Luo C, Miao L, Zhao Y, et al. A novel cationic lipid with intrinsic antitumor activity to facilitate gene therapy of TRAIL DNA [J]. *Biomaterials*, 2016, 102: 239-248.
- [15] Luo C, Sun J, Du Y Q, et al. Emerging integrated nanohybrid drug delivery systems to facilitate the intravenous-to-oral switch in cancer chemotherapy [J]. *J Control Release*, 2014, 176: 94-103.
- [16] Sofias A M, Dunne M, Storm G, et al. The battle of "nano" paclitaxel [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 122: 20-30.
- [17] Luo C, Wang Y, Chen Q, et al. Advances of paclitaxel formulations based on nanosystem delivery technology [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12(5): 434-444.
- [18] Yan W, Leung S S, To K K. Updates on the use of liposomes for active tumor targeting in cancer therapy [J]. *Nanomedicine*, 2020, 15(3): 303-318.
- [19] Swierczewska M, Han H S, Kim K, et al. Polysaccharide-based nanoparticles for theranostic nanomedicine [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 99(Pt A): 70-84.
- [20] Kuna K, Baddam S R, Kalagara S, et al. Emerging natural polymer-based architected nanotherapeutics for the treatment of cancer [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 262(Pt 1): 129434.
- [21] Zhou C K, Huang C Q, Li L, et al. Apricot polysaccharides as new carriers to make curcumin nanoparticles and improve its stability and antibacterial activity [J]. *J Food*

- Sci*, 2024, 89(2): 881-899.
- [22] Tian X J, Liang T S, Liu Y L, *et al.* Extraction, structural characterization, and biological functions of *Lycium barbarum* polysaccharides: A review [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(9): 389.
- [23] 马琳, 张蓓, 胡秀娟, 等. 枸杞多糖对小鼠海马神经元细胞系缺糖缺氧损伤保护作用及机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2020, 43(4): 683-687.
- [24] Du X, Zhang J J, Liu L, *et al.* A novel anticancer property of *Lycium barbarum* polysaccharide in triggering ferroptosis of breast cancer cells [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2022, 23(4): 286-299.
- [25] Feng L, Xiao X, Liu J, *et al.* Immunomodulatory effects of *Lycium barbarum* polysaccharide extract and its uptake behaviors at the cellular level [J]. *Molecules*, 2020, 25(6): 1351.
- [26] Sun L N, Zuo C L, Liu X X, *et al.* Combined photothermal therapy and *Lycium barbarum* polysaccharide for topical administration to improve the efficacy of doxorubicin in the treatment of breast cancer [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(12): 2677.
- [27] Deng X L, Luo S, Luo X, *et al.* Fraction from *Lycium barbarum* polysaccharides reduces immunotoxicity and enhances antitumor activity of doxorubicin in mice [J]. *Integr Cancer Ther*, 2018, 17(3): 860-866.
- [28] Wang Y, Bai F, Luo Q, *et al.* *Lycium barbarum* polysaccharides grafted with doxorubicin: An efficient pH-responsive anticancer drug delivery system [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 964-970.
- [29] Deng X L, Li X L, Luo S, *et al.* Antitumor activity of *Lycium barbarum* polysaccharides with different molecular weights: An *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Food Nutr Res*, 2017, 61(1): 1399770.
- [30] Fan Y Q, Liu Y Q, Wu Y, *et al.* Natural polysaccharides based self-assembled nanoparticles for biomedical applications - A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 192: 1240-1255.
- [31] Gong H X, Li W N, Sun J L, *et al.* A review on plant polysaccharide based on drug delivery system for construction and application, with emphasis on traditional Chinese medicine polysaccharide [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 211: 711-728.
- [32] Fu J X, Lu L K, Li M Z, *et al.* A γ -glutamyl transpeptidase (GGT)-triggered charge reversal drug-delivery system for cervical cancer treatment: *In vitro* and *in vivo* investigation [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(5): 1335.
- [33] Wang Y L, Zhou Y, Zheng Z N, *et al.* Sulforaphane metabolites reduce resistance to paclitaxel via microtubule disruption [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11): 1134.
- [34] Chi Y Y, Xue J Y, Huang S, *et al.* CapG promotes resistance to paclitaxel in breast cancer through transactivation of PIK3R1/P50 [J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6840-6855.
- [35] Zhang L, Wang D, Yang K, *et al.* Mitochondria-targeted artificial "nano-RBCs" for amplified synergistic cancer phototherapy by a single NIR irradiation [J]. *Adv Sci*, 2018, 5(8): 1800049.
- [36] Lei G, Zhuang L, Gan B Y. Targeting ferroptosis as a vulnerability in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(7): 381-396.
- [37] Wang Y M, Wu X R, Ren Z, *et al.* Overcoming cancer chemotherapy resistance by the induction of ferroptosis [J]. *Drug Resist Updat*, 2023, 66: 100916.
- [38] Jiang M L, Qiao M, Zhao C L, *et al.* Targeting ferroptosis for cancer therapy: Exploring novel strategies from its mechanisms and role in cancers [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(4): 1569-1584.
- [39] Guo R, Chen M, Ding Y Y, *et al.* Polysaccharides as potential anti-tumor biomacromolecules-a review [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 838179.
- [40] Yang H, Tang C, Yin C H. Estrone-modified pH-sensitive glycol chitosan nanoparticles for drug delivery in breast cancer [J]. *Acta Biomater*, 2018, 73: 400-411.
- [41] Yang Z, Sun N, Cheng R, *et al.* Hybrid nanoparticles coated with hyaluronic acid lipid for targeted co-delivery of paclitaxel and curcumin to synergistically eliminate breast cancer stem cells [J]. *J Mater Chem B*, 2017, 5(33): 6762-6775.
- [42] Chen H, Huang S, Wang H, *et al.* Preparation and characterization of paclitaxel palmitate albumin nanoparticles with high loading efficacy: an *in vitro* and *in vivo* anti-tumor study in mouse models [J]. *Drug Delivery*, 2021, 28(1): 1067-1079.
- [43] Zhang X, Niu S, Williams G R, *et al.* Dual-responsive nanoparticles based on chitosan for enhanced breast cancer therapy [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 221: 84-93.
- [44] Zhao M, Liu J, Tang Y, *et al.* Hyaluronidase responsive second near-infrared fluorescent nanocomplex for combined HER2 blockade and chemotherapy of HER2+ breast cancer [J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 141: 213115.