

CTP 修饰丹参酮 II_A 胶束的处方优化、表征及其心肌靶向保护作用

丁伟, 张妮, 陈韦*

辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032

摘要: 目的 构建并优化一种心肌靶向肽 CTP (APWHLSSQYSRT) 修饰的丹参酮 II_A 胶束 (cardiac-targeting peptide CTP-modified tanshinone II_A micelles, CTP-Ms/TS II_A), 并系统评价其理化特性及体外心肌保护作用。方法 采用薄膜水化法制备 CTP-Ms/TS II_A, 以包封率为核心指标, 运用 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化处方参数 [聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物 (Soluplus) 质量浓度、维生素 E 琥珀酸酯聚乙二醇 1000 (TPGS₁₀₀₀) 质量浓度、水化温度]。利用激光粒度仪和透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM) 表征 CTP-Ms/TS II_A 的粒径、ζ 电位及形貌; 以芘为探针测定其临界胶束浓度 (critical micelle concentration, CMC), 并考察制剂的储藏和血清稳定性。通过荧光显微镜与流式细胞术分析心肌细胞 (H9c2) 对 CTP-Ms/TS II_A 的摄取效率, 并在异丙肾上腺素诱导的 H9c2 细胞损伤模型中, 采用 DCFH-DA 和 JC-1 荧光探针、活死细胞染色及 CCK-8 检测 CTP-Ms/TS II_A 对活性氧水平、线粒体功能及细胞存活率的调控作用。**结果** 获得 CTP-Ms/TS II_A 最佳制备工艺参数: 处方体积 5 mL, Soluplus 质量浓度 12 g/L, TPGS₁₀₀₀ 质量浓度 5 g/L, 水化温度 40 °C。据此制备的 CTP-Ms/TS II_A (膜材含丹参酮 II_A、Soluplus、TPGS₁₀₀₀、DSPE-PEG₂₀₀₀、DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP), 包封率达 (90.64±1.01)% (n=3)。CTP-Ms/TS II_A 粒径为 (89.30±0.76) nm, ζ 电位为 (-0.033±0.150) mV; CMC 为 42.8 mg/L, 稳定性良好。与非靶向胶束相比, CTP 修饰显著增强了 H9c2 细胞的摄取效率, 并在清除活性氧、恢复线粒体膜电位及改善细胞存活率方面表现出更优效果。**结论** 成功制备了理化性质稳定的 CTP-Ms/TS II_A, 并通过体外实验验证了其具有心肌靶向与保护潜能; 为丹参酮 II_A 用于心血管疾病防治提供了新的实验基础与潜在的递送方案。

关键词: 丹参酮 II_A; 心肌细胞靶向; 靶向药物递送; Box-Behnken 设计-响应面法; 胶束; 心肌靶向肽 CTP; 临界胶束浓度
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)04-1275-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.04.008

Optimization, characterization, and evaluation of myocardium-targeting CTP-modified tanshinone II_A micelles for cardioprotection

DING Wei, ZHANG Ni, CHEN Wei

Liaoning University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Shenyang 110032, China

Abstract: Objective To construct and optimize tanshinone II_A (TS II_A)-loaded micelles modified with a cardiomyocyte-targeting peptide CTP (APWHLSSQYSRT) (CTP-Ms/TS II_A), optimize their formulation, and evaluate their physicochemical properties and cardioprotective effects *in vitro*. **Methods** CTP-Ms/TS II_A were prepared using the film hydration method. A Box-Behnken response surface design was applied to optimize formulation parameters (Soluplus concentration, TPGS₁₀₀₀ concentration, hydration temperature) with encapsulation efficiency as the evaluation index. Particle size, ζ potential, and morphology of micelles were characterized by dynamic light scattering and transmission electron microscopy (TEM). Critical micelle concentration (CMC) was determined using pyrene as a probe, and storage and serum stability were assessed. Cellular uptake was investigated in H9c2 cardiomyocytes by flow cytometry and fluorescence microscopy. In an isoproterenol-induced H9c2 injury model, intracellular reactive oxygen species (ROS), mitochondrial membrane potential, cell viability, and apoptosis were evaluated by DCFH-DA, JC-1, calcein/PI staining, and CCK-8 assays. **Results** The optimal preparation parameters were determined as: formulation volume 5 mL, Soluplus concentration 12 g/L, TPGS₁₀₀₀ concentration 5 g/L, and hydration temperature 40 °C. The CTP-Ms/TS II_A prepared under these

收稿日期: 2025-09-08

基金项目: 2023 年辽宁省科技计划联合计划项目 (2023JH2/101700227); 2022 年国家自然科学基金青年基金项目 (82104841)

作者简介: 丁伟 (1984—), 女, 副主任医师, 硕士, 研究方向为中西医结合防治代谢性疾病。E-mail: 58810016@qq.com

*通信作者: 陈韦 (1979—), 男, 主任医师, 硕士, 研究方向为中西医结合防治心血管疾病。E-mail: zhaowendao@126.com

conditions (with membrane materials including TS II_A, Soluplus, TPGS₁₀₀₀, DSPE-PEG₂₀₀₀, and DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP) achieved a high EE of (90.64 ± 1.01)% ($n=3$). The micelles exhibited a particle size of (89.30 ± 0.76) nm, a ζ potential of (-0.033 ± 0.150) mV, and a critical micelle concentration of 42.8 $\mu\text{g/mL}$, with good stability. Compared with non-targeted micelles, CTP-Ms/TS II_A exhibited significantly enhanced uptake in H9c2 cells, more effective ROS scavenging, restoration of mitochondrial membrane potential, and improved cell survival. **Conclusion** CTP-Ms/TS II_A with stable physicochemical properties were successfully prepared, and their cardiac-targeting and cardioprotective potential were verified by *in vitro* experiments. This work provides a new experimental basis and potential delivery strategy for the application of TS II_A in the prevention and treatment of cardiovascular diseases.

Key words: tanshinone II_A; cardiomyocyte targeting; targeted drug delivery; Box-Behnken response surface methodology; micelles; cardiomyocyte-targeting peptide; critical micelle concentration

丹参酮是从丹参中提取的脂溶性活性成分，其中丹参酮 II_A (tanshinone II_A, TS II_A) 作为其主要活性单体，因其显著的抗氧化、抗炎及心血管保护作用而被广泛研究^[1-3]。近年研究表明，丹参酮 II_A 可通过调控炎症信号通路和减轻线粒体氧化损伤，有效改善心肌肥厚与心脏功能，在肥厚性心肌病 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM) 的治疗中展现出重要潜力^[4-6]。然而，丹参酮 II_A 的临床应用仍受限于 2 大关键问题：极低的水溶性导致口服生物利用度差；缺乏组织选择性易引发全身性不良反应^[7]。为突破上述瓶颈，开发高效、精准的靶向纳米递药系统已成为重要策略。其中，纳米胶束凭借其独特的“核-壳”结构优势显著：疏水性内核可通过疏水作用高效包载丹参酮 II_A 等难溶性药物；亲水性聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 化外壳则能增强体系的水分散性及血液稳定性^[8]。进一步通过在胶束表面修饰靶向配体，可实现药物在病变组织的特异性富集，从而提升治疗指数并降低系统毒性^[9]。值得注意的是，心肌靶向肽 (CTP, APWHLSSQYSRT) 已被证实可特异性结合心肌细胞表面受体，显著提升载体在心脏组织的靶向递送效率^[10-11]。基于此，本研究提出创新策略：将 CTP 修饰于纳米胶束表面，构建心肌靶向递送系统 (CTP-Ms/TS II_A)，以实现丹参酮 II_A 向心肌细胞的主动靶向递送，达成“增效减毒”的治疗目标^[12]。

基于上述背景，本研究采用薄膜水化法制备 CTP-Ms/TS II_A，通过 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化关键处方参数 [聚乙炔己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物 (Soluplus) 质量浓度、维生素 E 琥珀酸酯聚乙二醇 1000 (TPGS₁₀₀₀) 质量浓度、水化温度]；系统表征胶束的粒径、 ζ 电位、临界胶束浓度 (critical micelle concentration, CMC)；并通过体外细胞实验验证其心肌靶向性、活性氧

(reactive oxygen species, ROS) 清除能力及线粒体膜电位修复作用，为开发高效 HCM 靶向治疗制剂提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FA1004 型电子天平，上海越平科学仪器有限公司；Agress 1100 型高效液相色谱仪，UV 检测器，依利特 (大连) 分析仪器有限公司；KQ3200E 型超声波清洗器，超声功率 150 W，工作频率 40 kHz，昆山市超声仪器有限公司；RE52CS 型旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；Litesizer 500 型激光散射粒度仪，奥地利安东帕 (中国) 有限公司。

1.2 药品与试剂

丹参酮 II_A 对照品 (T109795, 分析对照品, 质量分数 ≥ 98%)、香豆素 (C104165, 质量分数 ≥ 99%, Cou)、异丙肾上腺素 (isoproterenol, Iso, L1044859)、4',6-双脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidinyl-2-phenylindole, DAPI, D106471)，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；Soluplus (TZS35)，德国巴斯夫公司；TPGS₁₀₀₀ (57668)、青霉素/链霉素溶液 (MA0110 质量浓度：青霉素 G 钠盐 10 kU/mL，硫酸链霉素 10 mg/mL)，大连美仑生物技术有限公司；二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000-CTP 委托西安瑞禧生物科技有限公司制备 (DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP)；pH 7.4 磷酸缓冲盐溶液 (PBS)、ROS 检测试剂盒 (CA1410)、线粒体膜电位检测试剂盒 (M8650)、CCK-8 试剂盒 (CA1210)，北京索莱宝科技有限公司；0.25% 胰蛋白酶 (25200114)，美国 Gibco 公司；其余常见溶剂均为色谱级纯度。大鼠心肌细胞 (H9c2)，赛百慷 (上海) 生物科技股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 CTP-Ms/TS II_A 的制备

参考文献报道方法^[13]，其基础处方与固定参数如下：每批次固定最终体积为 5 mL；丹参酮 II_A 投

药量为 2.0 mg; DSPE-PEG₂₀₀₀ 与 DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP 的投药量各为 2.0 mg。制备工艺如下: 精密称取上述固定量的丹参酮 II_A、DSPE-PEG₂₀₀₀ 及 DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP, 以及根据 3 因素 3 水平实验设计所确定的特定用量 Soluplus 与 TPGS₁₀₀₀, 共溶于适量甲醇中。于旋转蒸发仪上减压蒸除溶剂, 在瓶底形成均匀薄膜。随后, 加入 5 mL PBS, 于特定水化温度下超声处理使薄膜完全水化脱落。所得溶液经静置后, 通过 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 收集滤液, 即得。

采用相同的方法制备不添加丹参酮 II_A 的空白胶束 (blank-Ms), 不添加 DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP 的丹参酮 II_A 胶束 (Ms/TS II_A), 将丹参酮 II_A 替换为香豆素的荧光探针胶束 (Cou-Ms)。

2.2 CTP-Ms/TS II_A 处方优选

2.2.1 空白胶束溶液的制备 取 1.00 mL blank-Ms 溶液于 5 mL 棕色量瓶中, 加入少量甲醇, 超声破乳后定容至刻度, 混匀后置于 4 °C 避光保存, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取 1.00 mL CTP-Ms/TS II_A 样品溶液于 5 mL 棕色量瓶中, 加入适量甲醇, 超声破乳后定容至刻度, 混匀后置于 4 °C 避光保存, 备用。

2.2.3 对照品溶液的制备 准确配制丹参酮 II_A 对照品母液, 质量浓度为 0.10 g/L。以此母液依次稀释配制成系列对照品工作液, 质量浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mg/L。所有溶液均在 4 °C 下避光保存, 备用。

2.2.4 HPLC 色谱条件^[14] 采用依利特高效液相色谱系统; 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-水 (85:15) 为流动相; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 270 nm; 进样量 20 μL; 丹参酮 II_A 对照品溶液与 CTP-Ms/TS II_A 供试品溶液色谱图见图 1。

2.2.5 专属性考察 将丹参酮 II_A 对照品溶液、供试品溶液分别进样, 在上述色谱条件下分析, 结果见图 1。确认目标峰无干扰, 且峰形完整清晰, 表明该方法对胶束体系中丹参酮 II_A 的测定具有良好的专属性。

2.2.6 线性关系考察 按照“2.2.4”项下色谱条件对“2.2.3”项中系列丹参酮 II_A 对照品溶液进样分析, 以系列丹参酮 II_A 对照品溶液的质量浓度为横坐标 (X), 对应的峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得线性回归方程 $Y=159159.00X+304.95$, $R^2=0.9975$ 。结果表明, 丹参酮 II_A 在 0.5~

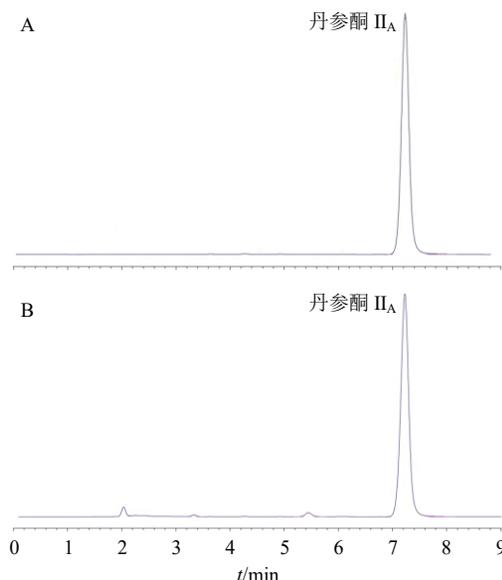


图 1 丹参酮 II_A 对照品溶液 (A) 和 CTP-Ms/TS II_A 供试品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of tanshinone II_A reference substance solution (A) and CTP-Ms/TS II_A test sample solution (B)

10.0 mg/L 线性关系良好。

2.2.7 胶束包封率的测定 参考文献方法^[15]进行包封率测定。采用葡聚糖凝胶柱 (Sephadex G-50) 分离, 结合 HPLC 法进行测定。取 CTP-Ms/TS II_A 胶束溶液 0.5 mL 至 5 mL 量瓶中, 甲醇定容, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 收集滤液, 得过柱前溶液; 另取同批次胶束溶液 0.5 mL 置于 Sephadex G-50 凝胶柱顶部, 加入 0.5 mL PBS 缓冲液洗脱 1 次, 合并洗脱液, 甲醇定容至 5 mL, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 收集滤液, 得过柱后溶液。按照“2.2.4”项下色谱条件进样分析, 记录过柱前后溶液中丹参酮 II_A 的峰面积, 按照下式计算包封率。

包封率 = 过柱后丹参酮 II_A 含量 / 过柱前丹参酮 II_A 含量

2.2.8 处方优选 在系统文献回顾与前期预实验的基础上, 本研究选取 Soluplus 质量浓度 (X₁)、TPGS₁₀₀₀ 质量浓度 (X₂) 与水化温度 (X₃) 为自变量, 其取值区间分别为 X₁ 6~18 g/L、X₂ 2~8 g/L、X₃ 20~60 °C。以丹参酮 II_A 包封率 (Y) 为响应指标, 采用 Design-Expert 8.0.6.1 软件构建响应面模型并进行统计分析。以上所有实验均在固定终体积为 5 mL 的处方规模下进行。具体实验安排与测定结果见表 1。利用 Design-Expert 8.0.6.1 软件拟合方程如下: $Y=91.33+8.20X_1+8.74X_2+0.48X_3-12.28X_1X_2+12.52X_1X_3-1.51X_2X_3-17.90X_1^2-7.08X_2^2-$

表1 实验设计与包封率结果

Table 1 Experimental design and encapsulation efficiency results

序号	$X_1/(g \cdot L^{-1})$	$X_2/(g \cdot L^{-1})$	$X_3/^\circ C$	Y/%	序号	$X_1/(g \cdot L^{-1})$	$X_2/(g \cdot L^{-1})$	$X_3/^\circ C$	Y/%	序号	$X_1/(g \cdot L^{-1})$	$X_2/(g \cdot L^{-1})$	$X_3/^\circ C$	Y/%
1	18 (+1)	2 (-1)	40 (0)	75.32	7	6	5	60	42.56	13	18	5	60	86.57
2	12 (0)	2	60 (+1)	71.78	8	12	2	20 (-1)	65.66	14	12	5	40	92.63
3	12	5 (0)	40	92.82	9	6	5	20	68.77	15	12	5	40	89.17
4	6 (-1)	2	40	36.91	10	6	8 (+1)	40	81.95	16	18	8	40	71.24
5	12	5	40	91.71	11	12	8	60	83.24	17	18	5	20	62.69
6	12	5	40	90.33	12	12	8	20	83.17					

8.29 X_3^2 。拟合所得 F 值达 68.78，对应“Prob> F ”极小，仅 0.01% 概率源于随机噪声，说明模型整体具备高度显著性，可有效阐释因变量变异。实验结果显示，模型 $P < 0.0001$ ，具有极显著性；因素 X_1 、 X_2 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 为显著项 ($P < 0.001$)，对胶束包封率影响显著；模型 $R^2 = 0.9888$ ，且预测 $R^2 = 0.8526$ 与调整 $R^2 = 0.9744$ 的差值均处于合理区间（一般以差值 < 0.2 为可接受标准），表明该模型过拟合风险低，预测能力与拟合能力适配。由此可见，该实验模型可精准反映胶束包封率随 3 个因素的变化规律，佐证了运用此模型分析 CTP-Ms/TS II_A 处方的可行性。方差分析结果见表 2。

使用 Design-Expert 8.0.6.1 软件绘制各因素之间的三维响应面图和二维等高线图，以直观反映 Soluplus 质量浓度 (X_1)、TPGS₁₀₀₀ 质量浓度 (X_2) 与水化温度 (X_3) 对胶束包封率的交互作用，结果见图 2。对图表进行直观分析，根据实际操作情况，最终确定最优处方为 Soluplus 质量浓度 12 g/L，

表2 方差分析结果

Table 2 ANOVA results

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	4 407.95	9	489.77	68.78	<0.0001
X_1	538.41	1	538.41	75.61	<0.0001
X_2	611.28	1	611.28	85.84	<0.0001
X_3	1.86	1	1.86	0.26	0.6248
X_1X_2	603.19	1	603.19	84.71	<0.0001
X_1X_3	627.25	1	627.25	88.09	<0.0001
X_2X_3	9.15	1	9.15	1.29	0.2943
X_1^2	1 348.49	1	1 348.49	189.37	<0.0001
X_2^2	211.12	1	211.12	29.65	<0.0010
X_3^2	289.26	1	289.26	40.62	<0.0004
残差	49.85	7	7.12		
失拟向	40.13	3	13.38	5.50	0.0665
纯误差	9.72	4	2.43		
总离差	4 457.79	16			

TPGS₁₀₀₀ 质量浓度 5 g/L，水化温度 40 °C。DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP 2 mg，DSPE-PEG₂₀₀₀ 2 mg，丹参酮 II_A

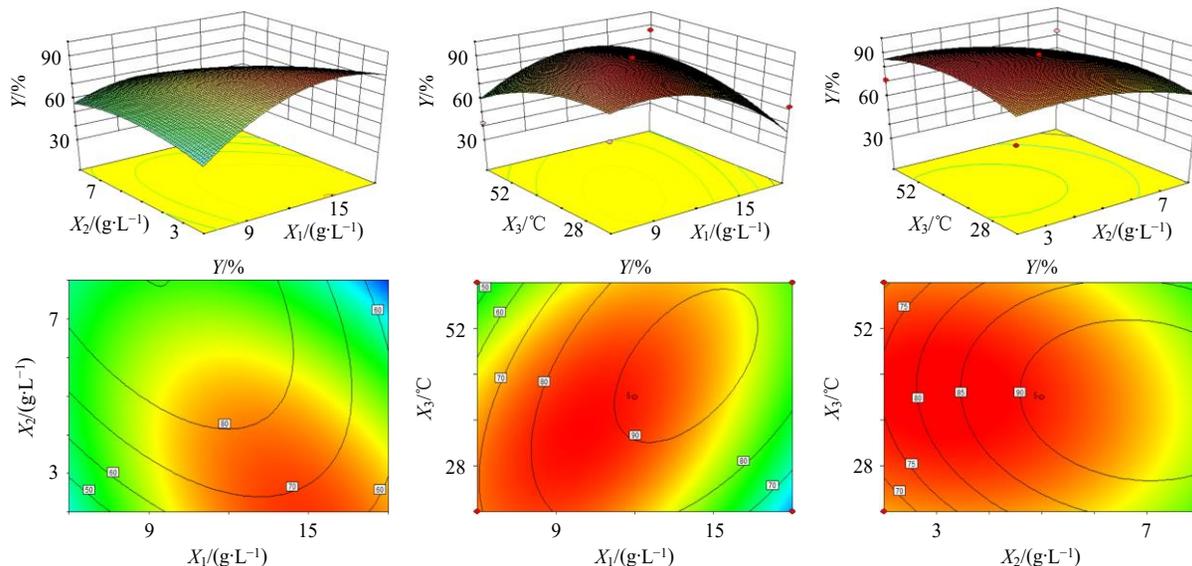


图2 X_1 与 X_2 、 X_1 与 X_3 、 X_2 与 X_3 的交互作用对胶束包封率影响的三维效应面图和等高线图

Fig. 2 Three-dimensional response surface plots and contour maps illustrating interaction effects of formulation factors interaction between X_1 and X_2 , X_1 and X_3 , X_2 and X_3 on micelle encapsulation efficiency

2 mg, 处方量为 5 mL。

2.2.9 验证实验 为了验证研究中得到的最优 CTP-Ms/TS II_A 处方合理, 按照上述方法制备 3 批 CTP-Ms/TS II_A。并测定 CTP-Ms/TS II_A 的包封率, 结果分别为 91.78%、89.87%、90.26%, 平均包封率为 (90.64±1.01)% (n=3), 与预测值 91.33% 相近, 表明所选择的处方工艺可靠。

2.2.10 胶束载药率的测定 按最优处方平行制备 3 批 CTP-Ms/TS II_A 胶束 (每批 5 mL)。固定处方量: Soluplus 质量浓度 12 g/L、TPGS₁₀₀₀ 质量浓度 5 g/L、DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP 2.0 mg、DSPE-PEG₂₀₀₀ 2.0 mg, 丹参酮 II_A 2.0 mg。胶束采用薄膜水化法制备: 将上述物料共溶于甲醇中, 减压除溶剂形成透明薄膜, 加入 5 mL PBS 于 40 °C 超声水化, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。按以下公式计算载药量, 3 批 CTP-Ms/TS II_A 胶束实测载药量依次为 2.022%、1.980%、1.989%, 平均载药量为 (1.997±0.022)% (n=3)。结果表明, 该工艺重复性好, 载药量稳定。

载药量 = 胶束中药物质量 / 载药胶束总质量

2.2.11 统计学分析 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据处理, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 并根据需要进行 Bonferroni 或 Dunnett 法事后多重比较; 两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2.3 CTP-Ms/TS II_A 的体外评价

2.3.1 粒径分布及表面电位测定 采用激光散射粒度仪中动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 法, 于 25 °C 下测定 CTP-Ms/TS II_A 的流体动力学直径及多分散指数 (polydispersity index, PDI); 同机测定 ζ 电位。所有样品均用 0.22 μm 微孔滤膜滤过后 3 次平行测定。结果见图 3, CTP-Ms/TS II_A 的平均粒径为 (89.30±0.76) nm, PDI 为 0.122±0.012 (图 3-A), 表明粒径分布均一, 且未因表面修饰而发生显著聚集。CTP-Ms/TS II_A 的 ζ 电位为 (-0.033±0.150) mV (图 3-B)。

宏观观察 (图 4-A) 可见, 游离丹参酮 II_A 几乎不溶于水, 呈漂浮状粉末; 而 CTP-Ms/TS II_A 为澄清均一的淡黄色溶液, 红色激光束通过时呈现典型丁达尔效应 (图 4-B); TEM 观察结果显示, CTP-Ms/TS II_A 呈类圆形 (图 4-C), 进一步证实纳米级胶束的成功构建。

2.3.2 胶束的 CMC 测定 CTP-Ms/TS II_A 的 CMC

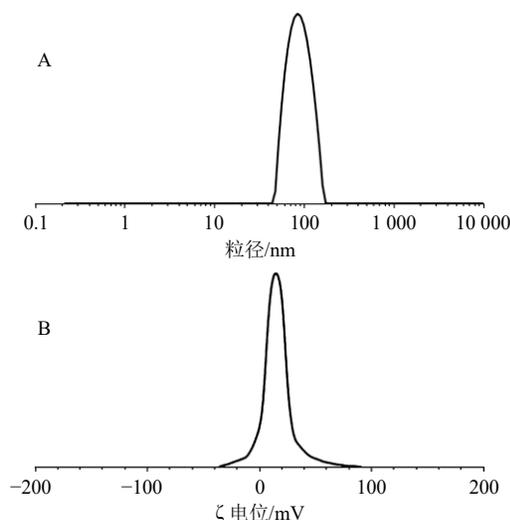


图 3 CTP-Ms/TS II_A 的粒径分布 (A) 和 ζ 电位分布 (B)
Fig. 3 Particle size distribution (A) and ζ potential distribution (B) of CTP-Ms/TS II_A

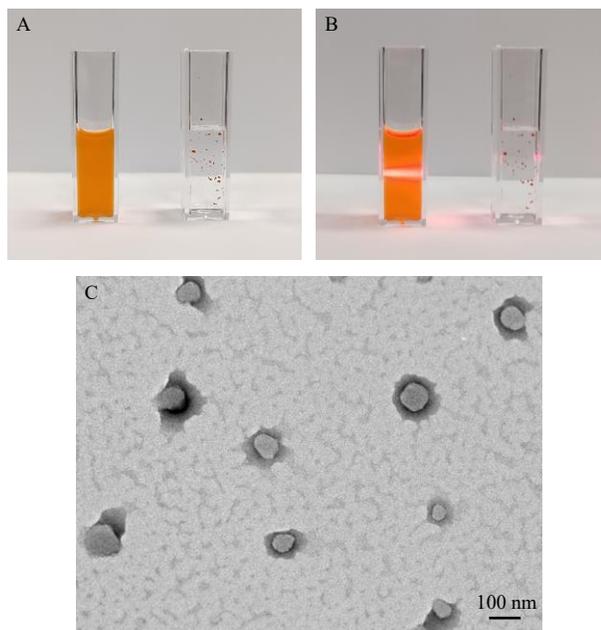


图 4 CTP-Ms/TS II_A 的外观 (A) 及丁达尔现象 (红色激光照射, B) 和 TEM 图 (C)

Fig. 4 Appearance (A), Tyndall effect (red laser illumination, B) and TEM diagram (C) of CTP-Ms/TS II_A

采用芘作为荧光探针进行测定^[16]。具体过程如下: 将 CTP-Ms/TS II_A 用超纯水依次稀释为 0.001~5 g/L 共 12 个梯度, 然后向每个样品中加入终浓度为 0.6 μmol/L 的芘, 混合物于 25 °C、避光条件下平衡 12 h, 以保证探针充分嵌入胶束疏水微区。随后在荧光分光光度计上记录发射光谱。计算第 1 振动峰 (*I*₁, 372 nm) 与第 3 振动峰 (*I*₃, 384 nm) 的荧光强度比值 (*I*₁/*I*₃), 并以该比值对胶束质量浓度 (*C*) 的对数作图。CMC 通过图中 2 个线性区域的交点确定。

实验结果如图 5 所示, 经计算, CTP-Ms/TS II_A 的 CMC 为 42.8 mg/L, 可以避免胶束进入体内因稀释而降解^[17]。

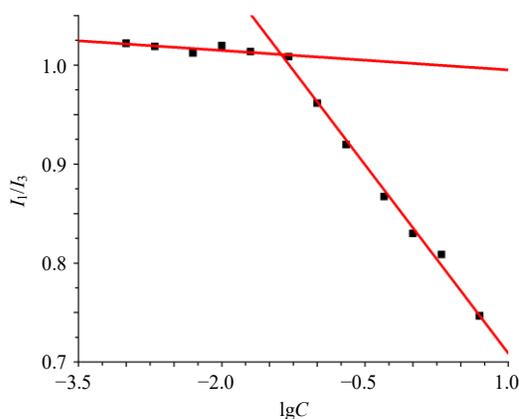


图 5 CTP-Ms/TS II_A 的 CMC
Fig. 5 CMC of CTP-Ms/TS II_A

2.3.3 胶束的体外稳定性评价 将 CTP-Ms/TS II_A 分别置于 4 °C 避光保存及含 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 PBS (pH 7.4) 中, 37 °C 孵育, 考察 7 d 内其粒径与 PDI 变化, 结果见表 3。4 °C 组: 粒径由 (89.80 ± 1.20) nm 缓慢增至 (91.90 ± 0.30) nm; FBS 组: 粒径由 (90.10 ± 1.30) nm 增至 (93.20 ± 0.02) nm。2 组 7 d 内粒径增幅 < 5 nm, PDI 无显著升高, 未见聚集或沉淀, 表明胶束在冷藏及生理蛋白环境中均保持良好的胶体稳定性。

表 3 CTP-Ms/TS II_A 胶束稳定性结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 CTP-Ms/TS II_A stability results ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

t/d	4 °C 避光		10% FBS 的 PBS (pH 7.4) 中	
	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI
1	89.80 ± 1.20	0.079 ± 0.019	90.10 ± 1.30	0.065 ± 0.003
2	91.40 ± 0.50	0.087 ± 0.026	91.90 ± 0.10	0.069 ± 0.002
3	91.50 ± 0.20	0.100 ± 0.023	92.10 ± 0.01	0.079 ± 0.033
4	91.70 ± 0.05	0.100 ± 0.007	92.10 ± 0.02	0.101 ± 0.007
5	91.80 ± 0.01	0.109 ± 0.024	92.20 ± 0.09	0.101 ± 0.017
6	91.80 ± 0.02	0.113 ± 0.006	93.10 ± 0.05	0.107 ± 0.023
7	91.90 ± 0.30	0.136 ± 0.025	93.20 ± 0.02	0.131 ± 0.039

2.3.4 胶束的体外释放评价 采用透析袋法评估胶束的体外释放行为, 释放介质为含 5% 聚山梨酯 80 的 PBS 溶液。分别取 1 mL 的丹参酮 II_A 对照品溶液和 CTP-Ms/TS II_A 样品, 装入截留相对分子质量为 8 000~14 000 的透析袋中, 并将其置于 20 mL 释放介质中。整个释放体系在 37 °C、100 r/min 的摇床中振荡。在预设时间点 (8、16、24、32、40、48 h) 分别取样 0.5 mL 释放液, 并同步补充等体积

新鲜释放介质。每个制剂组设置 3 个平行实验。采用 HPLC 法测定样品中丹参酮 II_A 的含量, 并计算制剂在各时间点的药物释放量。

体外释放率 = 释放的药物的量 / 药物总药量

结果如图 6 所示。在 8 h 时, 未包载的游离丹参酮 II_A 的体外累积释放率为 (25.17 ± 7.95) %, 而 CTP-Ms/TS II_A 组为 (12.09 ± 4.25) %; 至 16 h, 游离丹参酮 II_A 的累积释放率达到 (53.54 ± 7.40) %, CTP-Ms/TS II_A 组为 (16.54 ± 3.26) %; 24 h 时, 游离丹参酮 II_A 的累积释放率为 (77.45 ± 2.96) %, CTP-Ms/TS II_A 组为 (23.33 ± 5.26) %; 32 h 时, 2 组的累积释放率分别为 (79.95 ± 5.77) % 和 (35.16 ± 5.32) %; 至 48 h, 游离丹参酮 II_A 的累积释放率为 (82.37 ± 5.05) %, CTP-Ms/TS II_A 组的累积释放率为 (62.02 ± 6.91) %。上述结果表明, 与游离丹参酮 II_A 相比, CTP-Ms/TS II_A 在 48 h 内表现出明显的缓释特性。

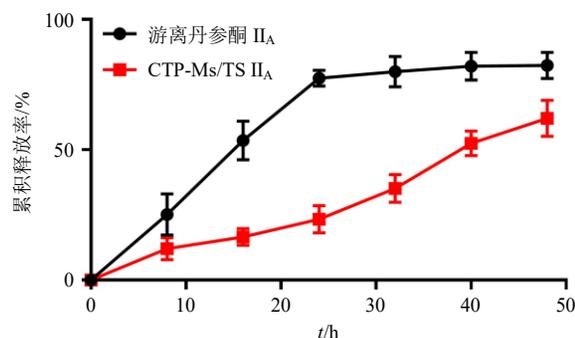


图 6 游离丹参酮 II_A 和 CTP-Ms/TS II_A 的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 *In vitro* release curves of free TS II_A and CTP-Ms/TS II_A ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.3.5 胶束的体外靶向性评价

(1) 荧光探针胶束的制备: 由于丹参酮 II_A 不具有荧光性, 因此本实验选用具有绿色荧光的香豆素 (Cou) 作为荧光探针代替丹参酮 II_A, 以评价胶束的体外细胞摄取情况^[18]。各胶束制备方法同“2.1”项。

(2) 荧光显微镜观察胶束摄取情况: 将 H9c2 细胞以 1.1 × 10⁵ 个/孔的密度, 接种于 6 孔板中, 孵育 24 h 后将 blank-Ms、Cou-Ms、CTP-Ms/Cou 加到孔中 (各孔中 Cou 的终浓度均为 3 μmol/L, 以 blank-Ms 作为对照, 每组 3 个复孔), 继续孵育 1 h, DAPI 避光染色 15 min, 利用荧光显微镜观察荧光强度并拍照如图 7 和表 4 所示。实验结果显示, 对照组细胞未见绿色荧光, 给药组具有明显绿色荧光, 荧光强度为 blank-Ms < Cou-Ms < CTP-Ms/Cou, 表明通

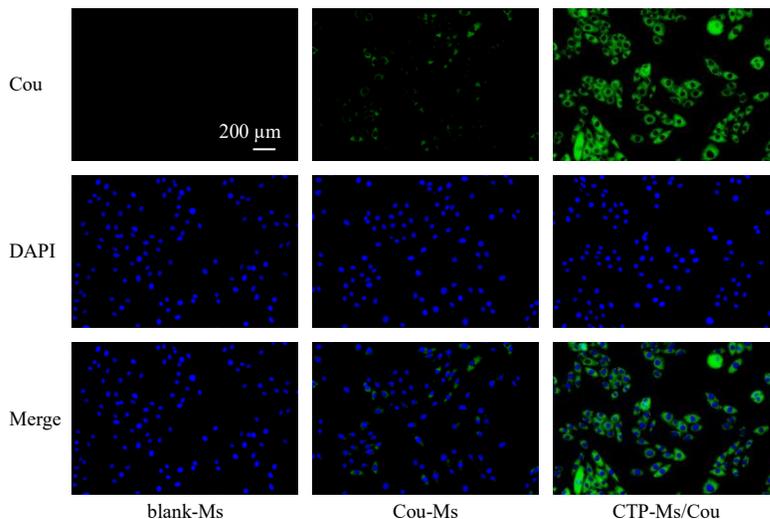


图7 H9c2细胞的摄取情况代表性图片

Fig. 7 Representative pictures of H9c2 cells uptake

表4 blank-Ms、Cou-Ms、CTP-Ms/Cou的相对荧光强度 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Relative fluorescence intensity of blank-Ms, Cou-Ms, CTP-Ms/Cou ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	Cou/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	相对荧光强度	
		荧光显微镜	流式细胞仪
blank-Ms	—	0	13.10 ± 0.40
Cou-Ms	3	27.69 ± 3.41	117.67 ± 9.61
CTP-Ms/Cou	3	48.71 ± 3.22**	232.33 ± 11.02***

与 Cou-Ms 组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs Cou-Ms group.

过 CTP 修饰胶束, 可显著增加 H9c2 细胞对药物的摄取。

(3) 流式细胞仪考察胶束摄取情况: 细胞模型的建立同上述方法, H9c2 细胞在含药培养基中培养 1 h 后, 用冷 PBS 洗 3 次, 消化后用 300 μL PBS 复悬, 采用流式细胞仪测定与细胞结合的 Cou 的荧光强度如图 8 和表 4 所示。流式细胞仪的测定结果与荧光显微镜观察结果相一致, 进一步验证 CTP 修饰胶束可以使药物更容易在 H9c2 细胞中蓄积。

2.3.6 活、死细胞染色实验 将 H9c2 心肌细胞以 1.2×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养 24 h。分组处理如下: 对照组加入正常培养基; 模型组加入 ISO (1 mmol/L, 48 h) 建立损伤模型; 游离丹参酮 II_A 组在模型组基础上加入游离丹参酮 II_A; Ms/TS II_A 组在模型组基础上加入非靶向载药胶束; CTP-Ms/TS II_A 组在模型组基础上加入 CTP 修饰靶向载药胶束 (丹参酮 II_A 浓度均为 2 $\mu\text{mol/L}$)。药物作用 24 h 后, 采用 Calcein-AM/ PI

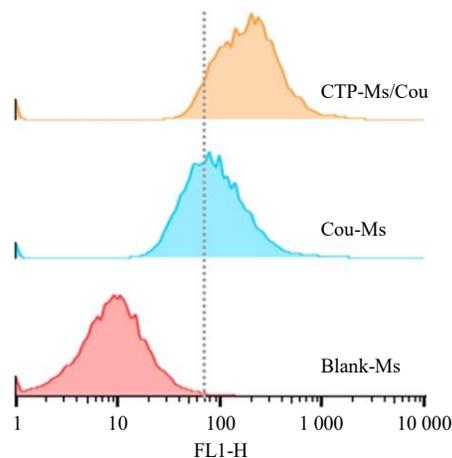


图8 流式细胞仪分析荧光强度

Fig. 8 Fluorescence intensity analyzed by flow cytometry

双染试剂盒按照说明书的步骤避光染色 30 min, 立即于倒置荧光显微镜下采集图像。绿色荧光 (Calcein-AM) 标记活细胞, 红色荧光 (PI) 标记死细胞。实验结果如图 9 所示, 对照组视野内几乎全为绿色荧光, 死细胞比例极低; 模型组出现大量红色荧光, 死细胞率显著升高, 提示损伤模型建立成功; 游离丹参酮 II_A 组死细胞率有所下降, 显示出丹参酮 II_A 本身具有一定心肌保护作用; Ms/TS II_A 组死细胞率进一步降低, 表明胶束递药系统可提高药效, 可能因为增加了药物的溶解性; CTP-Ms/TS II_A 组死细胞率最低, 且显著低于游离丹参酮 II_A 组, 证实 CTP 修饰可显著增强丹参酮 II_A 对心肌细胞的靶向保护效应。定量分析见表 5。

2.3.7 细胞存活率测定 采用 CCK-8 法评价各给药组对 H9c2 心肌细胞的保护作用。分组及给药剂量

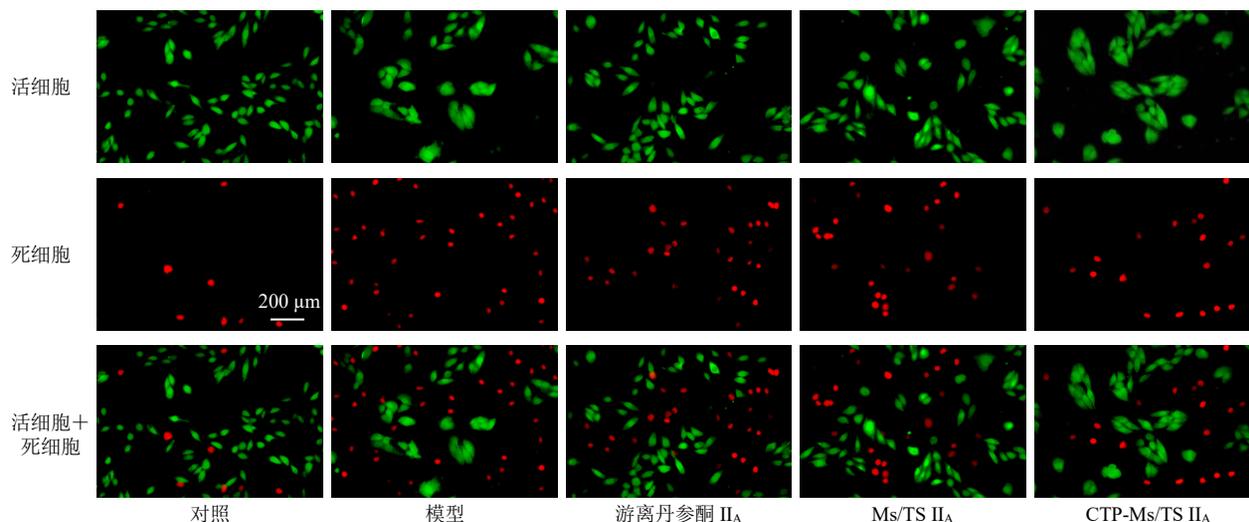


图9 ISO 诱导 H9c2 细胞损伤的活/死细胞染色结果的代表性图像

Fig. 9 Representative images of live/dead staining of ISO-injured H9c2 cells

表5 死细胞相对荧光强度半定量分析结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Semi-quantitative analysis results of relative fluorescence intensity of dead cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	相对荧光强度
对照	—	3.20 ± 1.63
模型	—	49.84 ± 5.11
游离丹参酮 II _A	2	30.93 ± 3.12***
Ms/TS II _A	2	26.74 ± 1.67***
CTP-Ms/TS II _A	2	19.43 ± 1.51***##

与模型组比较: *** $P < 0.001$; 与游离丹参酮 II_A 组比较: ## $P < 0.01$ 。

*** $P < 0.001$ vs model group; ## $P < 0.01$ vs free tanshinone II_A group.

同“2.3.6”项, 每组设 5 复孔, 以不含药物的 DMEM 培养基为空白对照。继续培养 48 h 后弃去药液, 每孔加入含 10% CCK-8 的新鲜培养基 100 μL , 避光孵育 2 h, 酶标仪 450 nm 处测定吸光度 (A) 值。结果见表 6, 实验结果进一步证实 CTP 修饰可增强丹参酮 II_A 对心肌细胞的靶向保护效应。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{对照}} / A_{\text{给药}}$$

表6 各组 H9c2 细胞存活率测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 6 Viability determination results of H9c2 cells in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞存活率/%
对照	—	100.00 ± 3.45
模型	—	55.04 ± 4.11
游离丹参酮 II _A	2	65.31 ± 2.46
Ms/TS II _A	2	74.82 ± 4.88
CTP-Ms/TS II _A	2	81.12 ± 7.73***#

与模型组比较: *** $P < 0.001$; 与游离丹参酮 II_A 组比较: # $P < 0.05$ 。

*** $P < 0.001$ vs model group; # $P < 0.05$ vs free tanshinone II_A group.

2.3.8 胶束对细胞内 ROS 水平的影响 (DCFH-DA 染色法) 将 H9c2 细胞以 1.1×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板, 培养 24 h。分组及给药方式同“2.3.6”项。药物作用 24 h 后, 弃去培养基, 采用 ROS 检测试剂盒按照说明书的步骤避光染色, 立即于倒置荧光显微镜下采集图像。实验结果如图 10 所示, 对照组仅见极弱的绿色荧光。模型组绿色荧光强度显著升高, 提示氧化应激模型成功建立。游离丹参酮 II_A 组绿色荧光下降, 表明丹参酮 II_A 本身具有清除 ROS 的能力。Ms/TS II_A 组绿色荧光进一步下降, 显示出胶束递药系统对药效的增强作用。值得注意的是, CTP-Ms/TS II_A 组荧光强度显著低于模型组 ($P < 0.001$), 显著低于 Ms/TS II_A 组 ($P < 0.05$), 证实 CTP 修饰的胶束可显著提高丹参酮 II_A 在心肌细胞内的 ROS 清除率。定量分析见表 7。

2.3.9 胶束恢复线粒体膜电位 ($\Delta\Psi_m$) 能力评价 (JC-1 染色法) 细胞处理及给药方式同“2.3.6”项下。药物作用 24 h 后, 弃上清, 按线粒体膜电位检测试剂盒说明书的步骤避光染色, 立即于倒置荧光显微镜下采集图像。红色荧光 (J-聚集体) 表示线粒体 $\Delta\Psi_m$ 正常; 绿色荧光 (J-单体) 表示 $\Delta\Psi_m$ 下降。利用 Image J 计算红/绿荧光比值 (Red/Green) 以定量 $\Delta\Psi_m$ 水平。实验结果如图 11 和表 8 所示, 对照组呈现显著红色聚集体, 提示线粒体膜电位正常; 模型组绿色荧光显著增强, Red/Green 值与对照组相比显著下降 ($P < 0.001$), 表明 ISO 诱导线粒体严重去极化; 游离丹参酮 II_A 组 Red/Green 值略有恢复, 证实丹参酮 II_A 本身可部分抑制线粒体损伤; Ms/

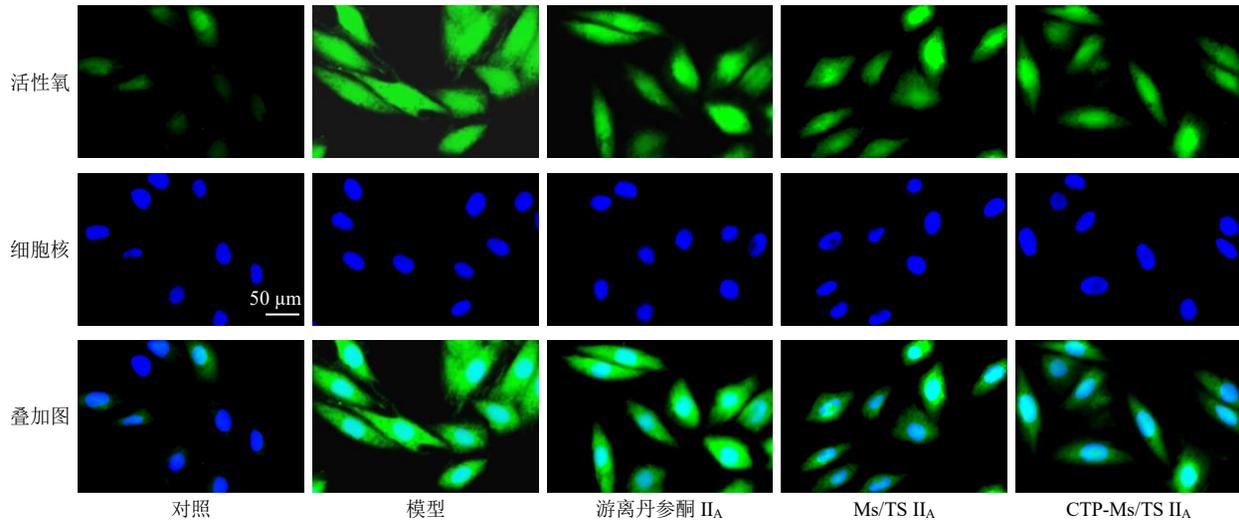


图 10 CTP-Ms/TS II_A 清除 ISO 诱导 H9c2 细胞内 ROS 的效果代表性图片

Fig. 10 Representative images of efficacy of CTP-Ms/TS II_A in scavenging ROS in ISO-injured H9c2 cells

表 7 相对 ROS 水平定量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Relative ROS quantification ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	相对荧光强度
对照	—	23.85 ± 2.23
模型	—	62.13 ± 2.55***
游离丹参酮 II _A	2	53.26 ± 2.49**
Ms/TS II _A	2	47.17 ± 3.22*
CTP-Ms/TS II _A	2	40.24 ± 2.06

与 CTP-Ms/TS II_A 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs CTP-Ms/TS II_A group.

TS II_A 组 Red/Green 值进一步提升, 显示胶束递送系统可提高丹参酮 II_A 的线粒体保护能力; CTP-Ms/TS II_A 组 Red/Green 值显著高于游离丹参酮 II_A 组 ($P < 0.01$), 表明 CTP 修饰的胶束显著增强丹参酮 II_A 靶向心肌细胞线粒体、维持 $\Delta\Psi_m$ 稳定的能力。

3 讨论

心血管疾病作为全球首要死亡原因, 其中 HCM 因进行性心功能障碍和高猝死风险, 已成为重大公共卫生挑战。HCM 的核心病理特征表现为心肌细胞

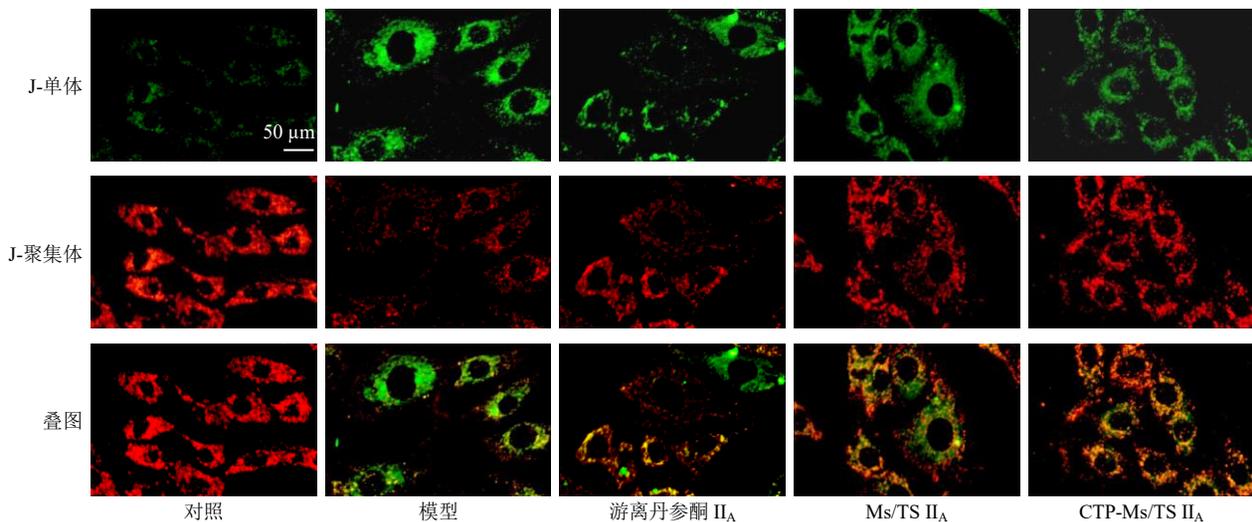


图 11 CTP-Ms/TS II_A 恢复 ISO 诱导 H9c2 细胞线粒体 $\Delta\Psi_m$ 的代表性共聚焦图像

Fig. 11 Representative confocal images of mitochondrial $\Delta\Psi_m$ restoration by CTP-Ms/TS II_A in ISO-injured H9c2 cells

异常肥大伴线粒体功能障碍和氧化应激失衡^[19-20]。本研究构建的心肌靶向肽 CTP 修饰丹参酮 II_A 胶束 (CTP-Ms/TS II_A), 通过协同解决药物溶解性与靶向递送 2 大瓶颈, 为基于天然活性成分的心血管精准

治疗提供了新策略。在递送系统设计中, 针对丹参酮 II_A 极低水溶性导致的生物利用度局限^[21], 采用 Soluplus/TPGS₁₀₀₀ 构建的“核-壳”结构胶束实现了高效药物包载。通过 BBD-RSM 优化, 获得包封率

表 8 红/绿荧光强度比值的定量分析 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 8 Quantitative analysis of red/green fluorescence ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	相对荧光强度
对照	—	2.60 \pm 0.18
模型	—	0.77 \pm 0.06***
游离丹参酮 II _A	2	1.06 \pm 0.01###
Ms/TS II _A	2	1.44 \pm 0.05###
CTP-Ms/TS II _A	2	1.61 \pm 0.04### $\Delta\Delta$

与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$; 与游离丹参酮 II_A组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs model group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs free tanshinone II_A group.

(90.64 \pm 1.01) %、粒径 (89.30 \pm 0.76) nm 及近中性 ζ 电位 (-0.033 \pm 0.150 mV) 的理想特性。该系统的优势源于材料特性的协同作用: Soluplus 提供自组装骨架, 但其疏水域对高结晶性丹参酮 II_A 的负载能力有限; TPGS₁₀₀₀ 的维生素 E 疏水段通过 π - π 堆积及疏水作用增强与丹参酮 II_A 菲醌结构的结合, 显著提升载药量^[22]; 40 °C 水化温度优化分子自组装动力学。此外, 42.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 CMC 赋予体系在生理稀释环境中的结构稳定性, 而近中性 ζ 电位可能降低血浆蛋白的非特异性吸附, 其稳定机制涉及疏水相互作用与 PEG 空间稳定效应的协同^[23-24]。相较于文献报道中主要专注于改善溶解性的普通丹参酮 II_A 纳米粒或脂质体等, 本研究采用的 Soluplus/TPGS₁₀₀₀ 体系在载药量、稳定性及制备工艺优化方面展现出综合优势。

本研究的关键创新在于采用 CTP 介导的主动靶向策略。通过 DSPE-PEG₂₀₀₀-CTP 将靶向配体锚定于胶束表面, 实现载体的功能化修饰。流式细胞术与荧光显微镜分析结果一致表明, CTP 修饰显著增强了 H9c2 细胞对胶束的摄取效率。该靶向作用的具体机制, 后续将通过竞争性抑制实验进一步验证。在 ISO 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤模型中, CTP-Ms/TS II_A 展现出显著保护效应。细胞内 ROS 清除: CTP-Ms/TS II_A 组 ROS 水平较模型组显著降低, 且清除效率高于未修饰胶束; 线粒体功能调控: $\Delta\Psi_m$ 红/绿荧光强度比显著提高, 表明线粒体膜电位得到有效恢复。

需指出的是, 本研究尚未在动物模型中系统验证其心脏靶向效率及体内药效, 相关实验已纳入本课题组后续研究计划, 将在下一阶段予以开展。综上所述, CTP-Ms/TS II_A 通过纳米胶束与靶向肽的协

同设计, 解决了丹参酮 II_A 的水溶性与靶向性难题, 在体外显示出显著心肌靶向摄取与保护效应。该策略为中药活性成分的靶向递送提供了范式, 有望成为 HCM 等心血管疾病治疗的新选择。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Du L X, Guan C Y, Zhang H, *et al.* Harnessing the therapeutic value of tanshinone II_A: A breakthrough therapy in cardiovascular diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1620152.
- [2] Hu T, Zou H X, Le S Y, *et al.* Tanshinone II_A confers protection against myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting ferroptosis and apoptosis via VDAC1 [J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52(5): 109.
- [3] 周露, 李冰艳, 顾霞飞, 等. 丹参酮 II_A 通过 PKC/Cx43 通路减轻大鼠心肌缺血再灌注致心律失常 [J]. *药物评价研究*, 2023, 46(12): 2617-2623.
- [4] Chen Y F, Lee N H, Pai P Y, *et al.* Tanshinone-induced ERs suppresses IGFII activation to alleviate Ang II-mediated cardiac hypertrophy [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2017, 37(5): 493-499.
- [5] 胡月华, 陈强, 邢海生, 等. 丹参酮 II_A 通过抑制 miR-376b-5p 降低急性心肌梗死大鼠致炎细胞因子分泌并减轻心肌损伤研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(12): 3887-3894.
- [6] Zhao Y P, Wang F, Jiang W, *et al.* A mitochondrion-targeting tanshinone II_A derivative attenuates myocardial hypoxia reoxygenation injury through a SDH-dependent antioxidant mechanism [J]. *J Drug Target*, 2019, 27(8): 896-902.
- [7] Zhang X, Kang X, Du L, *et al.* Tanshinone II_A loaded chitosan nanoparticles decrease toxicity of β -amyloid peptide in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 193(pt 1): 81-94.
- [8] Chen G J, Wang Y Y, Xie R S, *et al.* A review on core-shell structured unimolecular nanoparticles for biomedical applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 130: 58-72.
- [9] Zheng Y T, Oz Y, Gu Y M, *et al.* Rational design of polymeric micelles for targeted therapeutic delivery [J]. *Nano Today*, 2024, 55: 102147.
- [10] Lu Z Y, Chai Q Y, Dai W B, *et al.* Mitochondrial homeostasis restoring peptide-drug conjugates with ROS-responsive NO releasing ability for targeted therapy of myocardial infarction [J]. *J Nanobiotechnology*, 2025, 23(1): 496.
- [11] Zahid M, Feldman K S, Garcia-Borrero G, *et al.* Cardiac targeting peptide, a novel cardiac vector: Studies in bio-

- distribution, imaging application, and mechanism of transduction [J]. *Biomolecules*, 2018, 8(4): 147.
- [12] Tong L J, Wang Q Y, Zhang Y M, *et al.* Myocardial delivery of miR30d with peptide-functionalized milk-derived extracellular vesicles for targeted treatment of hypertrophic heart failure [J]. *Biomaterials*, 2025, 316: 122976.
- [13] Yu Y, He S Y, Kong L, *et al.* Brain-targeted multifunctional micelles delivering oridonin and phillyrin for synergistic therapy of Alzheimer's disease [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2023, 87: 104794.
- [14] Wang J, Kong L, Guo R B, *et al.* Multifunctional icariin and tanshinone II_A co-delivery liposomes with potential application for Alzheimer's disease [J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 1648-1662.
- [15] 谷丽艳, 孙朝渭, 董禹何, 等. 活性氧响应型透明质酸修饰的鬼臼毒素纳米胶束的处方优化与体外评价 [J]. *中草药*, 2024, 55(22): 7663-7673.
- [16] Zhang L, Guo R B, Liu Y, *et al.* Therapeutic effect of pH responsive magainin II modified azithromycin plus curcumin micelles in different depth models of MRSA infection [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 7383.
- [17] Liu P X, Zhang T Y, Chen Q J, *et al.* Biomimetic dendrimer-peptide conjugates for early multi-target therapy of Alzheimer's disease by inflammatory microenvironment modulation [J]. *Adv Mater*, 2021, 33(26): e2100746.
- [18] Li Y, Song X N, Yi X, *et al.* Zebrafish: A visual model to evaluate the biofate of transferrin receptor-targeted 7 peptide-decorated coumarin 6 micelles [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(44): 39048-39058.
- [19] Gömöri K, Herwig M, Hassoun R, *et al.* Altered cellular protein quality control system modulates cardiomyocyte function in volume overload-induced hypertrophy [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(11): 2210.
- [20] Peugnet V, Chwastyniak M, Mulder P, *et al.* Mitochondrial-targeted therapies require mitophagy to prevent oxidative stress induced by SOD2 inactivation in hypertrophied cardiomyocytes [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(4): 723.
- [21] Jiang Y R, Zhang Z H, Huang S Y, *et al.* Enhanced dissolution and stability of tanshinone II_A base by solid dispersion system with nano-hydroxyapatite [J]. *Pharmacogn Mag*, 2014, 10(39): 332-337.
- [22] Yang C L, Wu T T, Qi Y, *et al.* Recent advances in the application of vitamin E TPGS for drug delivery [J]. *Theranostics*, 2018, 8(2): 464-485.
- [23] 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.
- [24] Gong L S, Zhu J C, Yang Y X, *et al.* Effect of polyethylene glycol on polysaccharides: From molecular modification, composite matrixes, synergetic properties to embeddable application in food fields [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 327: 121647.

[责任编辑 郑礼胜]