·实验研究·

包载吲哚菁绿和阿霉素胶束的制备与体外抗肿瘤效果评价

张米娅,陈　亮,庞海燕,杨　红
(苏州大学药学院,苏州 215123)

[摘要]　**目的**:本研究旨在联合光治疗和化疗作用,制备共包载吲哚菁绿(ICG)和阿霉素(DOX)的胶束(ID-M),对制备得到的胶束进行表征并在细胞水平考察其体外抗肿瘤效果。**方法**:采用超声透析法制备ID-M,制备单包载ICG的胶束(I-M)和单包载DOX的胶束(D-M)作为对照。对胶束的粒径、Zeta电位、包封率及释放行为等进行测定,并通过ID-M对4T1细胞的作用,考察其抗肿瘤效果和作用机制。**结果**:制得的ID-M平均水合粒径为80.4 nm且带负电,多分散系数为0.252(<0.3),ICG和DOX的包封率分别为92.5%和96.8%;ID-M的升温实验结果达到(36.5±1.1)℃。体外释放实验表明ID-M具有明显的缓释效果。细胞实验证明:4T1细胞对ID-M的摄取量较游离药物均提升了近2倍量。ID-M在光照后抑制4T1细胞生长的IC_{50}为0.72 μg·mL^{-1},较游离ICG/DOX下降了3.6倍。光照前ID-M中的DOX主要定位在溶酶体中,光照后ID-M中的ICG使细胞内的ROS水平提高,溶酶体膜破坏,DOX进入细胞核中发挥化疗作用。**结论**:本研究成功制备了ID-M,有效结合光治疗和化疗发挥协同抗肿瘤作用。

[关键词]　阿霉素;吲哚菁绿;胶束;光治疗-化疗;协同抗肿瘤作用
[中图分类号]　R943;R965　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003－3734(2021)13－1220－07

Preparation of indocyanine green and doxorubicin micelles and evaluation of its anti-tumor effect *in vitro*

ZHANG Mi-ya, CHEN Liang, PANG Hai-yan, YANG Hong
(*College of Pharmaceutical Sciences, Soochow University, Suzhou* 215123, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To combine the chemotherapy and photodynamic therapy in one system, the micelles (ID-M) that co-loaded the photosensitizer indocyanine green (ICG) and the chemotherapeutic drug doxorubicin (DOX) were prepared and characterized. The anti-tumor effects of ID-M *in vitro* were further investigated. **Methods**: An ultrasound dialysis method was used to prepare the micelles containing ICG and DOX (ID-M), while the single-encapsulated ICG micelles (I-M) and the single-encapsulated DOX micelles (D-M) were prepared using the same method as the controls. The particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency and drug release behaviors of the micelles were measured. In addition, the anti-tumor effects and mechanism of ID-M in 4T1 cells were investigated. **Results**: The average hydrated diameter of ID-M particles was 80.4 nm with negative charge, and the coefficient of the particle size dispersion was 0.252 (<0.3). The encapsulation efficiency of ICG and DOX in ID-M were 92.5% and 96.8%, respectively. The results of the temperature warming testing under irradiation of ID-M solution reached (36.5±1.1) ℃. The release experiment of ID-M *in vitro* showed a significant sustained-release effect. Cell experiment proved that the uptake of 4T1 cells for ID-M was nearly 2 times higher than that for free drugs. The IC_{50} of ID-M inhibiting the growth of 4T1 cells with irradiation was 0.72 μg·mL^{-1}, which was 3.6-fold lower than that of free ICG/DOX. Before light exposure, ID-M was mainly located in the lysosome. However, after light exposure, the

[基金项目]　国家自然科学基金资助项目(81473166)
[作者简介]　张米娅,女,硕士研究生,研究方向:肿瘤靶向纳米药物。E-mail:zmy0625@outlook.com。
[通讯作者]　杨红,女,教授,研究方向:肿瘤靶向纳米药物。联系电话:(0512)65884630,E-mail:yanghong@suda.edu.cn。

ROS levels in the cells were increased due to the existence of ICG in ID-M, which damaged the lysosomal membrane and made DOX in ID-M enter to the nucleus to play a chemotherapeutic effect. **Conclusion**: In this study, the micelles (ID-M) with synergistic antitumor effects of phototherapy and chemotherapy were successfully prepared.

[**Key words**] doxorubicin; indocyanine green; micelles; photo-chemotherapy; synergistic antitumor effect

癌症是全球性的重大疾病,化疗药物是癌症的主要治疗手段,但其具有毒性大、选择性差、不良反应多等问题[1]。即使采用药物联合治疗或是手术与化疗联合应用等方法,仍然疗效欠佳[2]。通过将药物用脂质体、胶束等新型给药体系包载可有效改善对肿瘤的疗效[3-4]。

阿霉素(doxorubicin, DOX)是广泛应用的抗肿瘤化疗药物,但有心脏毒性等问题[5]。光治疗是近年来新型的肿瘤治疗方法,包括光热治疗(photothermal therapy, PTT)和光动力治疗(photodynamic therapy, PDT),其主要原理是光敏剂受激发光照射后,会产生热和活性氧,从而起到杀伤癌细胞的作用[6]。吲哚菁绿(ICG)是目前唯一被美国 FDA 批准上市的光敏剂,光照可同时产生 PTT 和 PDT 治疗作用。而在无光照时毒性极低,但其在水中不稳定,在体内易被清除[7]。

胶束给药系统优势显著,其能够提高难溶性药物的生物利用度,减少不良反应,改善体内稳定性,延长循环时间,具有缓释作用和对肿瘤细胞的被动靶向作用[8-9]。因此,本文设计用聚乙二醇-b-聚己内酯(PEG-PCL)包载光敏剂 ICG 和化疗药 DOX,发挥 2 种治疗手段的协同作用,为进一步研究出高效低毒新型制剂奠定基础。

材料与方法

1 仪器

超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);台式高速离心机(湖南可成仪器设备公司);2600 型紫外分光光度计(日本岛津公司);LS55 荧光分光光度计(德国珀金埃尔默公司);激光粒度分析仪(英国马尔文公司);HT7700 透射电子显微镜(美国 FEI 公司);785 nm 近红外激光器(长春雷仕光电有限公司);恒温培养振荡器(上海智诚分析仪器制造公司);710 型共聚焦荧光扫描显微镜(德国卡尔·蔡司公司);细胞用培养皿(美国 Thermo 公司)。

2 试药和试剂

ICG(大连美仑生物技术有限公司);盐酸阿霉素(DOX HCl,大连美仑生物技术有限公司);聚乙二醇-b-聚己内酯(PEG-PCL,山东岱罡生物有限公司);三乙胺、甲醇(国药集团化学试剂有限公司,化学纯);二甲基亚砜(DMSO,上海麦克林生化科技有限公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT,上海江莱生物科技有限公司);Hoechst 33342、Lysotracker、活性氧试剂盒(上海碧云天生物技术公司);吖啶橙(AO,北京百瑞金生物科技有限公司);RPMI 1640 完全培养基(Hyclone,美国 Thermo 公司)。

3 实验动物

小鼠乳腺癌细胞(4T1,苏州大学纳米学院提供)。

4 胶束的制备与表征

4.1 胶束的制备 精密称取 PEG-PCL 8 mg 和 ICG 1 mg 分别加 DMSO 溶液 200 μL,超声溶解得相应的溶液。另精密称取 DOX·HCl 1 mg 溶于 DMSO 200 μL 中,加三乙胺 3 μL 脱盐并超声得到脱盐阿霉素溶液。将 3 份溶液混合,继续超声得均匀的溶液(A)。另取 6 mL 去离子水,边超声边将溶液 A 逐滴加到水中,继续超声即得胶束初溶液(B)。将溶液 B 透析过夜,除去未包载的药物及有机试剂,得到 ICG 及 DOX 共包载的胶束溶液(ID-M)。另外,处方中不加 ICG 和/或 DOX,同法制备得到单包载 ICG 胶束溶液(I-M)、单包载 DOX 胶束溶液(D-M)及空白胶束溶液(B-M)。

4.2 胶束的粒径及 Zeta 电位考察 采用激光散射粒径测定仪对各胶束溶液的粒径分布及 Zeta 电位进行分析。

4.3 胶束的包封率考察 分别用紫外-可见法、荧光法建立测定 ICG 和 DOX 的标准曲线。分别精密称取 ICG 和 DOX 粉末 1 mg,分别溶于 DMSO 溶液 10 mL 中配成 2 种储备液。将 ICG 储备液用 DMSO 溶液稀释成浓度分别为 0.08,0.2,0.4,0.8,2.0,4.0 和 8.0 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 的 ICG 标准溶液($n=3$),在 780 nm 测定其吸光度值(Abs),以吸光度(y)与浓度(x)建立检测 ICG 的标准曲线。另外,将 DOX 储备液用 DMSO 溶液稀释成浓度分别为 0.1,0.2,0.4,0.8,1,2 和 4 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 的 DOX 标准液($n=3$),用荧光分光

光度计检测(480 nm 激发光,发射波长为 593 nm)得到其荧光强度值,以荧光强度(y)与浓度(x)建立检测 DOX 的荧光标准曲线。

各胶束溶液,用 100 倍体积 DMSO 溶液破坏后,测定其紫外吸光度值和荧光强度值,计算得到胶束溶液中的药物浓度。包封率(EE)公式:EE(%) = 药物包载量/药物总量 ×100%。

4.4 胶束的光热稳定性考察取 ICG 浓度为 10 μg·mL^{-1}的 ID-M 胶束溶液 0.5 mL,以 785 nm 激光器(1.5 W·cm^{-2})光照 5 min,每 30 s 记录一次溶液温度。关闭激光器,待溶液冷却到室温后,以相同条件再次照射 5 min,如此光照去光照反复 5 次。

4.5 胶束的体外释放行为考察 用透析法考察。分别将 80 μg·mL^{-1} DOX 浓度的 ID-M 和 Free I/D 溶液置于透析袋(MWCO:3 500 Da)后,放入模拟生理环境和肿瘤细胞溶酶体内环境的 pH 7.4 PBS 和 pH 5.0 PBS 中,在 37 ℃,120 r·min^{-1}的恒温震荡仪中透析。分别于不同时间点取释放液,并补充等体积新鲜缓冲液,用荧光法检测缓冲液中 DOX 的含量,计算累积释放量、考察释放规律。

5 胶束的体外细胞实验

5.1 细胞摄取量的考察 为考察胶束中药物进入肿瘤细胞的量,取对数生长的 4T1 细胞接种于 6 孔板中(细胞密度 5 ×10^5 个·孔$^{-1}$),置于细胞培养箱中(37 ℃,5% CO_2)孵育 24 h 后,分别加入 ICG 浓度为 8 μg·mL^{-1}的 ID-M、对照组为游离 ICG + DOX 混合物(Free I/D),孵育 24 h 并用 PBS 清洗细胞后,将细胞吹打分散在 PBS 中并计数;超声(500 W,120 s)粉碎细胞,取细胞粉碎液加入 DMSO 溶液,检测细胞摄入的 ICG 和 DOX 的浓度(方法同“**1.2**”项)。

5.2 细胞毒性的考察 为考察胶束对肿瘤细胞的毒性,取对数生长的 4T1 细胞接种于 96 孔板中(细胞密度 5 ×10^4 个·mL^{-1}),孵育(条件同“**2.1**”项),加入不同浓度的 I/D-M,Free I/D,给药 24 h 后,更换培养基,光照组用 785 nm 激光器(1.5 W·cm^{-2},3 min)。继续孵育 24 h 后,更换培养基,加入 5 mg·mL^{-1} MTT 溶液,孵育 4 h。吸出孔板中的液体,加入 DMSO,振荡混匀,用酶标仪检测 490 nm 处的吸光度值(Abs)。计算细胞存活率(%) = $Abs_{实验组}$/$Abs_{对照组}$ ×100%;将各组细胞存活率及给药浓度输入 IC_{50}计算器,计算得到 IC_{50}值;计算协同指数 CI,CI = (共包载 IC_{50}处 A 药物的浓度)/(单包载 A 药物 IC_{50}处的浓度) + (共包载 IC_{50}处 B 药物的浓度)/(单包载 B 药物 IC_{50}处的浓度),若 CI < 0.8,则协同治疗效果显著[10]。

5.3 促进细胞内产生活性氧的考察 将对数生长期的 4T1 细胞接种于 12 孔板中,加入用培养基稀释的 ICG 浓度为 4 μg·mL^{-1}的 I-D,D-M,ID-M,Free I/D,孵育 24 h,用无血清培养基洗 3 次,光照组(条件同“**2.2**”项)与非光照组一起加入 DHE 孵育 30 min。用荧光显微镜观察红色荧光。

5.4 破坏细胞溶酶体膜促进药物进入细胞核的考察 用吖啶橙(AO)荧光探针法检测,将 4T1 细胞接种于 24 孔板中,分别加入用培养基稀释的 ICG 浓度为 4 μg·mL^{-1}的 ID-M,Free I/D,I-M,D-M 溶液孵育 24 h 后,光照组(条件同“**2.2**”项)与非光照组一起加入 10 μg·mL^{-1}的 AO 孵育 30 min。用荧光显微镜观察孔板内细胞的不同荧光。

5.5 促进化疗药物进入细胞核的考察 将 4T1 细胞接种于 confocal 培养皿中,加入用培养基稀释的 ICG 浓度为 4 μg·mL^{-1}的 ID-M 溶液,孵育 6 h 后,光照(条件同“**2.2**”项)后继续孵育 6 h。与非光照组一起,用 1 μg·mL^{-1} Hoechest 33342 染核,孵育并用 PBS 冲洗 3 次,用 50 μmol·L^{-1}的 Lysotracker DND-26 染溶酶体,孵育洗涤,加入 1 mL 培养基,用激光共聚焦显微镜观察 confocal 皿中的细胞状态。

结　果

1 胶束的表征

1.1 胶束的粒径及 Zeta 电位考察 结果见表 1。

表 1 胶束的表征结果　　$\bar{x} \pm s, n = 3$

项目	ID-M	I-M	D-M	B-M
水合粒径/nm	80.4 ±14.3	49.2 ±1.70	50.9 ±1.95	52.9 ±0.88
多分散系数	0.252 ±0.015	0.162 ±0.049	0.207 ±0.021	0.259 ±0.014
电位/mV	−17.2 ±0.66	−0.268 ±0.016	−1.37 ±0.45	−0.931 ±0.22
DOX 包封率/%	96.8 ±6.48		95.4 ±2.56	
ICG 包封率/%	92.5 ±5.29	93.7 ±6.27		

1.2 标准曲线的建立 ICG 的标准曲线为 $y = 0.218\ 8x - 0.013\ 8$，线性范围为 0.08 ~ 8.0 μg·mL^{-1}，$R^2 = 0.999\ 8$，线性关系良好。DOX 的标准曲线为 $y = 122.47x - 4.981\ 7$，线性范围为 0.1 ~ 4.0 μg·mL^{-1}，$R^2 = 0.999\ 6$，线性关系良好。

1.3 胶束的包封率考察 结果见表 1。

说明 DOX 和 ICG 共包载胶束符合被动靶向要求，并保持各单包载胶束的高包封率。

1.4 胶束的光热稳定性考察 ID-M 胶束的光热稳定性结果见图 1，尽管后面略有衰减，但前 3 次升温稳定达到(36.5 ± 1.1) ℃，温差为(11.5 ± 1.1) ℃，光热稳定性良好。

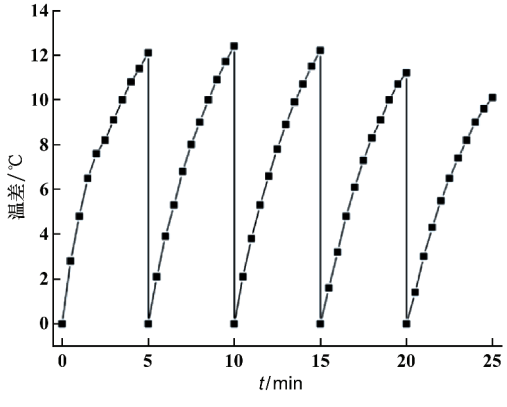


图 1 ID-M 光热升温曲线

1.5 胶束的体外释放行为考察 图 2 为累积释放曲线图。表 2 为分别采用零级方程、一级方程、Higuchi 方程和 Weibull 方程，对 DOX 累计释放量相关数据进行拟合，得到 ID-M 和 FreeI/D 分别在 pH 5.0 PBS 和 pH 7.4 PBS 中的释放行为结果，胶束和游离药物的释放规律拟合后都符合 Weibull 方程，药物经胶束包载后缓释作用显著，在模拟正常生理环境的 pH 7.4 PBS 中的释放非常缓慢，而模拟肿瘤细胞溶酶体内环境 pH 5.0 PBS 使释放加快，$t_{1/2}$从 105.36 h 缩短至 22.85 h，缩短了 78.3%。说明 ID-M 可将 DOX 靶向输送至肿瘤细胞溶酶体处释放，并发挥作用，而在达到靶部位前药物泄漏少。

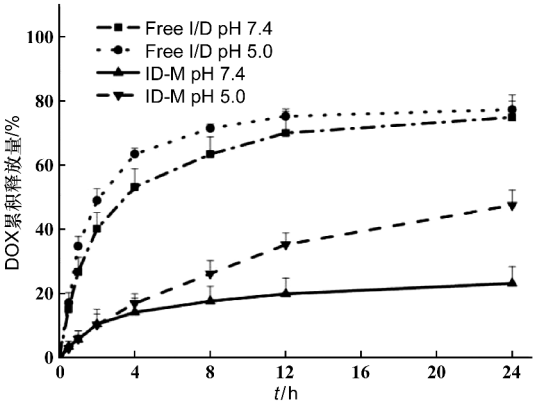


图 2 DOX 的累计释放曲线

表 2 DOX 的释放规律拟合方程

组别	拟合方程	r^2	$t_{1/2}$/h
ID-M pH 7.4	In[-In(1 - Q)] = 0.856 6Int - 2.733 2	0.949 7	105.36
ID-M pH 5.0	In[-In(1 - Q)] = 0.793 2Int - 2.848 4	0.994 1	22.85
Free I/D pH 7.4	In[-In(1 - Q)] = 0.548 6Int - 1.202 4	0.956 8	4.589
Free I/D pH 5.0	In[-In(1 - Q)] = 0.518 5Int - 0.956 8	0.902 1	3.122

2 胶束的体外细胞实验

2.1 细胞摄取量的考察 见图 3。

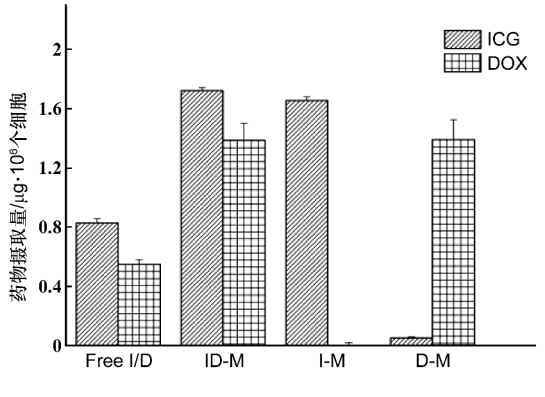
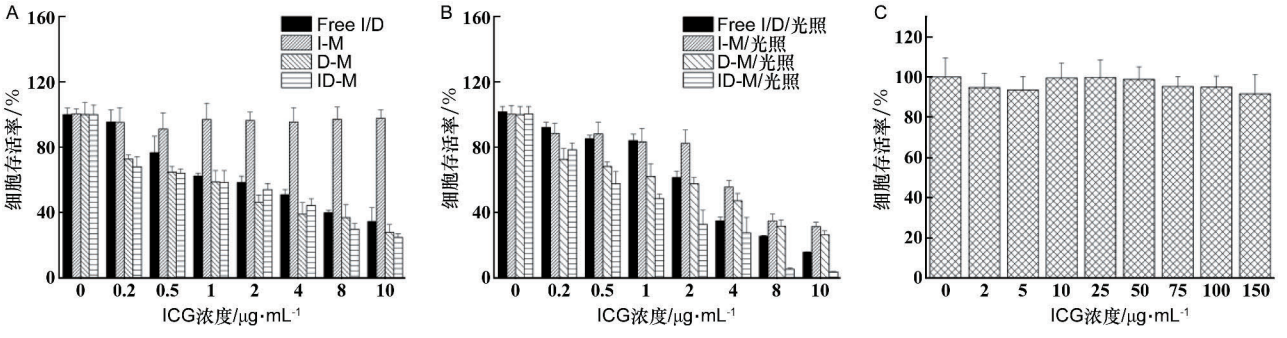


图 3 4T1 细胞对 DOX 和 ICG 的摄取

图 3 显示药物经胶束包载后的 ID-M，可使细胞摄取 2 种药物的量显著高于游离药物，DOX 的摄取量增加了 2.0 倍，ICG 的摄取量增加了 1.6 倍。而且细胞摄取量 ID-M 组与 D-M 组、I-M 组的对应药物几乎一致，ID-M 保持了各单包载胶束的优势。

2.2 细胞毒性的考察 从图 4 的细胞存活率可知，空白胶束对细胞几乎没有毒性。通过计算，得到结果为：光照前只有 DOX 化疗作用。IC_{50}(μg·mL^{-1})：I-M 在给药浓度范围内几乎没有毒性 ≪ Free I/D 组(3.02) ≪ D-M 组(1.44) ≈ ID-M 组(1.35)。光照后，可兼有 DOX 化疗和 ICG 光毒性作用，IC_{50}(μg·mL^{-1})：I-M 组(4.72) ≪ D-M 组(1.83) < Free I/D 组(1.21) ≪ ID-M 组(0.72)。光照后 ID-M 的细胞毒

性显著增加(IC_{50}降低了 46.67%)。同时,ID-M 的细胞毒性经统计学考察,非光照下除与 I-M 有差异外,与其余各组均无显著性差异($P>0.05$)。但光照下 ID-M(>1 μg·mL^{-1})与各组均有极为显著的差异($P<0.01$),抗肿瘤作用增效显著。并且,计算得到 ID-M 的协同指数(CI)为 0.62,符合文献对 CI<0.8 即有显著协同治疗效果的要求,说明本研究联合 2 种治疗手段,ICG 和 DOX 共包载 ID-M 具有显著的抗肿瘤协同作用。



A:非光照组;B:光照组;C:载体材料

图 4 各类样品的细胞存活率

2.3 促进细胞内产生活性氧的考察 ICG 促进产生活性氧(ROS)是其发挥杀伤细胞作用的重要指标。以荧光探针二氢乙啶(DHE)检测 ROS,利用没有荧光的 DHE 可在细胞内能被 ROS 氧化成氧化乙啶,氧化乙啶掺入 DNA 中产生红色荧光,用荧光显微镜观察荧光强弱判断胞内 ROS 的量。图 5 为活性氧 ROS 荧光检测结果。可见,荧光强度(a.u.),光照前:PBS 组(0.2) = Free I/D 组(0.2) = I-M 组(0.2) < D-M 组(0.3) = ID-M 组(0.3),各组几乎都只有非常微弱的荧光。光照后:PBS 组(0.4) < D-M 组(0.5)≪Free I/D 组(1.4)≪I-M 组(2.4) < ID-M 组(2.6)。说明 ID-M 促进肿瘤细胞内产生 ROS 的能力最强,说明其光毒性最大。

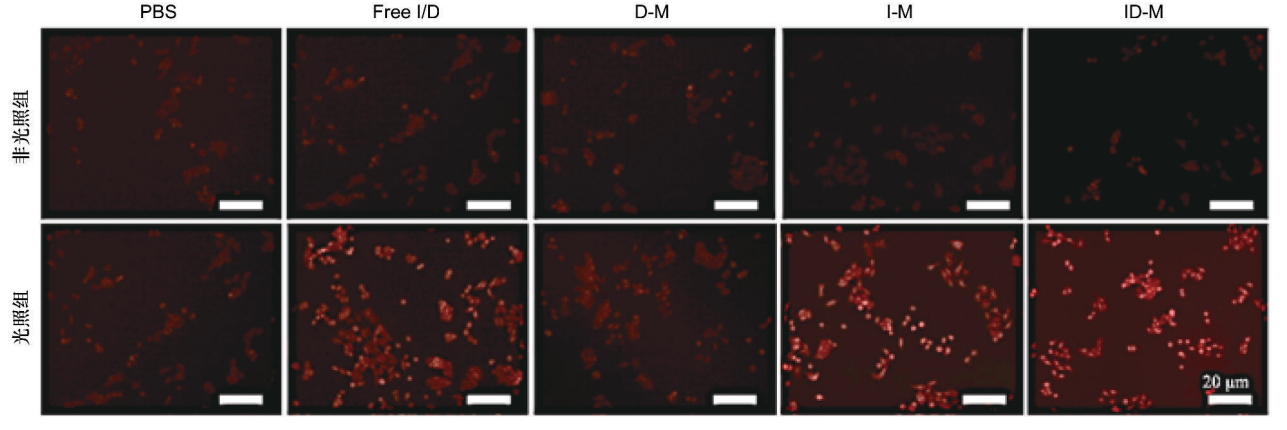


图 5 荧光显微镜观察 4T1 细胞 DHE 荧光图

2.4 破坏细胞溶酶体膜促进药物进入细胞核的考察 吖啶橙(AO)荧光探针可透过活细胞膜,进入细胞内偏酸性的溶酶体中被质子化产生红色荧光,而在细胞核等偏中性的环境中则呈现绿色荧光。从图 6 荧光显微镜观察结果可知,光照前各组破膜率比较接近。光照后含有 ICG 的样品组都有红色荧光减弱,绿色荧光增强的现象。统计后发现,光照后 30 min 各组的溶酶体破膜率分别为:PBS 组(1.3%) < D-M 组(5.3%) < Free I/D 组(41.3%) < I-M 组(100%) = ID-M 组(100%)。因此,光照后 ICG 产生 ROS,促使溶酶体破膜,进而促进 ID-M 中的 DOX 进入细胞核发挥杀死肿瘤细胞的作用。

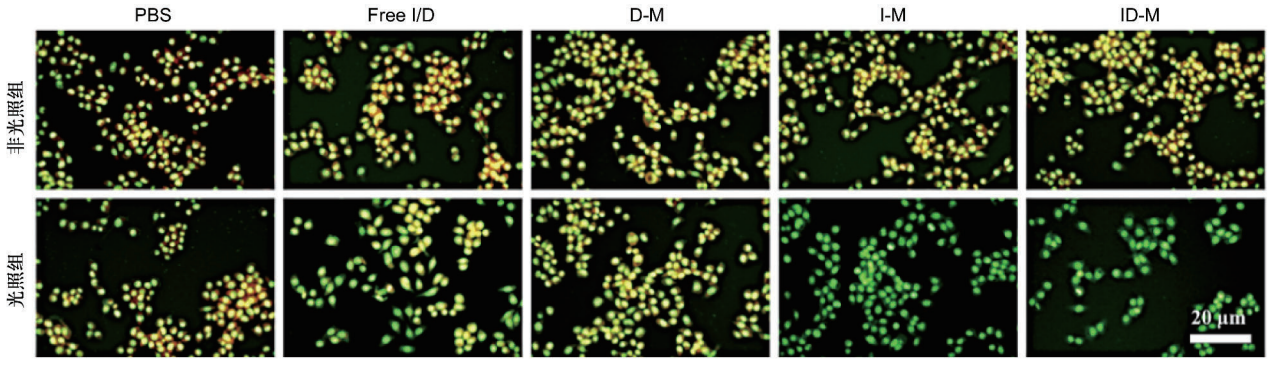


图 6 荧光显微镜观察 4T1 细胞的溶酶体膜被 ID-M 破坏的情况

2.5 光照促进化疗药物进入细胞核的协同作用考察 DOX 可进入肿瘤细胞核抑制 DNA 与 RNA 的合成,以其入核量判断化疗作用。图 7 为 ID-M 中 DOX 进核情况。细胞核均被染成蓝色,溶酶体被染成绿色,DOX 显红色荧光。细胞核中的 DOX 由红蓝荧光共定位率反映,溶酶体中的 DOX 由红绿荧光共定位率反映,余下的 DOX 则在胞浆中。红蓝荧光共定位率高,说明 DOX 进入细胞核多,抗肿瘤效果好;红绿荧光共定位率高,说明 DOX 在溶酶体中多,效果差。结果,考察共定位率发现,光照前,DOX 有 92.5% 在溶酶体中,2.7% 在细胞核中,4.8% 在胞浆中;光照后不同时间,DOX 从溶酶体逃逸进入细胞核的量逐渐提升,到光照后 12 h 占总量 82.7% 的 DOX 进入细胞核,使核内药量增加 29.6 倍。因此,光照极大地提高了 ID-M 的细胞毒性,与其大大增加了进入细胞核的药量有关,从而证实了 ID-M 高效抑制肿瘤细胞生长,存在着化疗和光毒性的协同作用。

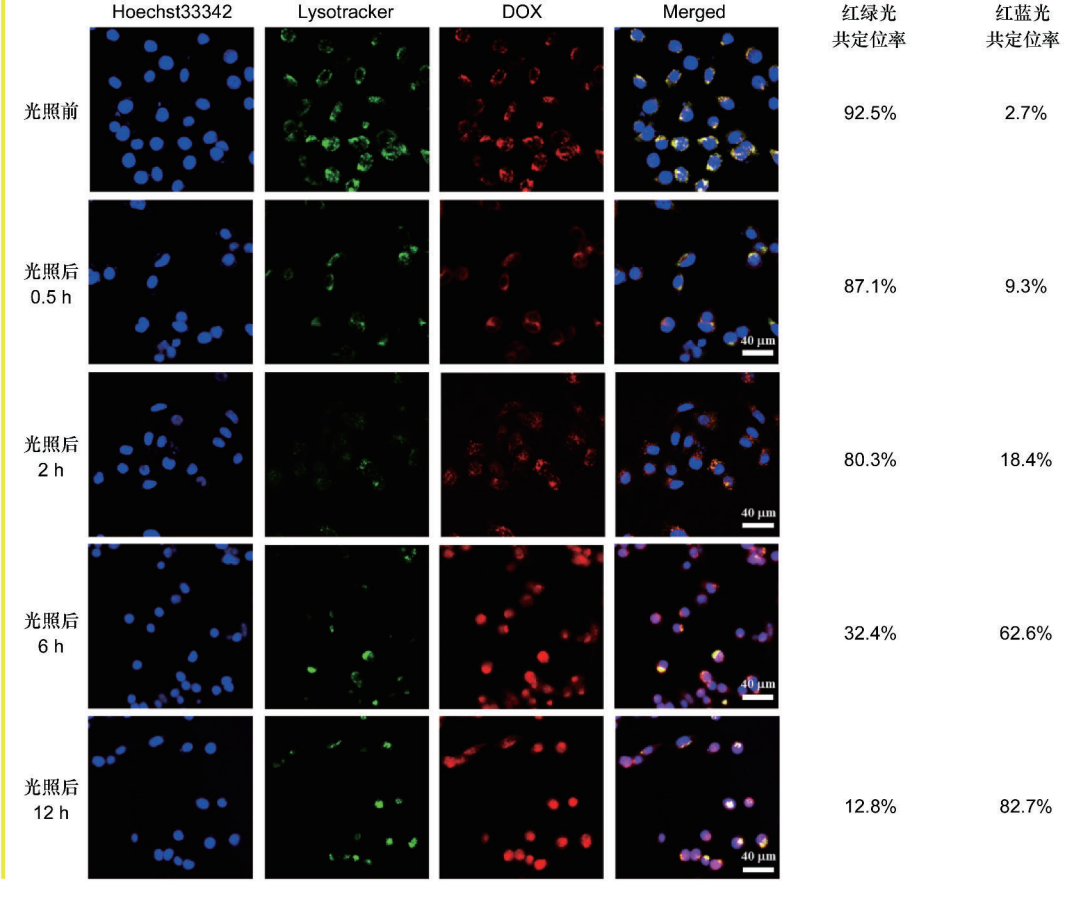


图 7 光照前后胶束与溶酶体及细胞核的共定位情况

讨　论

近年来,利用载体包载药物制备胶束的技术已广泛应用于肿瘤的治疗。胶束可有效降低化疗药物的毒副作用,提高稳定性,具有缓释作用和肿瘤的靶向杀伤作用。同时,近年来光敏剂在肿瘤治疗中发挥光治疗作用的应用也越来越普遍。通过光敏剂与化疗药的共包载联合给药,能够有效改善对肿瘤的治疗效果。

本研究以市售载体 PEG-PCL 制备 ICG 和 DOX 共包载的 ID-M,并对其进行研究。在建立测定方法时,由于考察以 DMSO 为溶剂配制标准溶液,而配制样品溶液时因加入胶束溶液带入微量水,为此本研究专门进行了二者溶剂系统对测定影响的考察,结果发现测定结果完全一致,说明本文建立的测定方法准确可靠。表征结果显示 ID-M 纳米粒符合被动靶向要求并保持各单包载胶束的高包封率。ID-M 光热稳定性良好,尽管本文所有细胞实验仅需照射 1 次激光,但前 3 次升温稳定的结果,为下一步动物实验所需,奠定了基础。体外释放结果表明,胶束有明显的缓释效果,并且在酸性条件下响应性释放,为后续的肿瘤治疗研究提供了依据。细胞水平上的研究显示:4T1 细胞对 ID-M 胶束的摄取量显著提高;光照后,共包载 DOX 和 ICG 的 ID-M,具有显著的抑瘤作用和抗肿瘤协同作用,可促进胞内 ROS 水平显著提高,进而导致溶酶体膜破坏和药物从溶酶体逃逸,促进 DOX 进入细胞核发挥化疗作用,从而证实了 ID-M 高效抑制肿瘤细胞生长,具有光疗、化疗的协同作用,以及药物的靶向递送和可控释放。

总之,本文共包载胶束纳米粒 ID-M 在细胞水平上证实了光疗和化疗的高效协同作用,充分发挥 2 种疗效的优势互补作用,智能实现药物的胞内递送,为下一步以动物模型的体内抗肿瘤研究奠定了基础。

[参 考 文 献]

[1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1):7 - 30.

[2] 陈曦, 雷涛, 余海峰, 等. 伊布替尼单药治疗套细胞淋巴瘤的疗效与不良反应分析[J]. 中国新药与临床杂志, 2020(8):472 - 477.

[3] 彭颖, 唐颖楠, 周莉莉, 等. 脂质体的抗肿瘤靶向性研究进展[J]. 中国新药杂志, 2018,27(13): 1510 - 1514.

[4] LIU J, LI J, LIU T. Fabrication of mixed polymeric micelles based on stimuli-responsive amphiphilic copolymers for drug delivery and controlled release[J]. *Nano*, 2020,15(3):2050040.

[5] YAN M, CAI A, LI J, *et al*. Preparation of β-CD-DPPE-Dox Nanomedicine and Its' Application as the Anticancer and Antitumor Drug[J]. *Scientific Reports*,2019,9:13670.

[6] SHI J, KANTOFF PW, WOOSTER R, *et al*. Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017,17:20 - 37.

[7] 高乾乾, 张娜娜, 王昊冉, 等. 白蛋白-生育酚纳米粒的构建及其联合化疗-光疗抗乳腺癌细胞多药耐药[J]. 江苏大学学报(医学版), 2020, 30(3):192 - 197.

[8] 宫宇, 周春娜, 许琛. 还原响应型阿霉素前药胶束的制备及其抑制肺癌 A549 和乳腺癌 MCF-7 细胞增殖研究[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(23):2825 - 2832.

[9] LÜBTOW MM, LORSON T, FINGER T, *et al*. Combining ultrahigh drug-loaded micelles and injectable hydrogel drug depots for prolonged drug release[J]. *Macromol Chem Phys*, 2020, 221: 1900341.

[10] LIU Y, FLYNN TJ, FERGUSON MS, *et al*. Use of the Combination Index to determine interactions between plant-derived phenolic acids on hepatotoxicity endpoints in human and rat hepatoma cells[J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(5):461 - 468.

编辑:刘卓越/接受日期:2021 - 01 - 20