PEG-SS(O)-SN38 的制备及其自组装胶束的质量评价及初步药效研究

贾李瑛[1,2]，陈伶俐[2]，孙考祥[1*]
（1. 烟台大学药学院，山东烟台 264000；2. 中国科学院上海药物研究所药物制剂研究中心，上海 201203）

摘要：通过二硫键键合聚乙二醇（PEG_{2000}）和伊立替康活性代谢物 SN38 得到还原响应性的两亲性聚合物 PEG-SS(O)-SN38，采用薄膜分散法将 PEG-SS(O)-SN38 制成自组装胶束。透射电镜（TEM）观察显示胶束呈球形或类球形。采用动态光散射法（DLS）测得其平均粒径为（106.3±0.5）nm、多分散系数为 0.19±0.05。荧光法测得的临界胶束浓度为（0.070±0.008）mg/ml，提示形成的胶束能较好地维持结构完整性。在体外模拟的还原性环境中，测得该胶束 2 h 时释出的 SN38 含量增加至（66.55±0.53）%。在 pH 7.4 磷酸盐缓冲液（PBS）和胎牛血清（FBS）中，该胶束的 48 h 累积释放率分别为（50.24±4.53）%、（57.43±2.92）%，说明具有一定的缓释效果；并且，该胶束与 PBS 孵育 24 h 或与 FBS 孵育 8 h，粒径几乎不变，表明 PEG-SS(O)-SN38 形成的胶束在模拟的生理条件下稳定性良好。体外细胞毒性试验结果显示，该胶束对人胰腺癌（Capan-1）细胞具有显著的生长抑制作用。裸小鼠体内药效试验结果显示，与相同剂量的盐酸伊立替康注射液相比，PEG-SS(O)-SN38 自组装胶束对荷 Capan-1 瘤裸小鼠具有明显的肿瘤抑制作用，且裸小鼠体质量没有显著下降。

关键词：SN38；伊立替康；聚乙二醇化；自组装胶束；还原响应性；稳定性；抗肿瘤；细胞毒性；药效学
中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)01-0069-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.01.007

Preparation of PEG-SS(O)-SN38 and Quality Evaluation and Preliminary Pharmacodynamics of Its Self-assembled Micelles

JIA Liying[1,2], CHEN Lingli[2], SUN Kaoxiang[1*]
(*1. School of Pharmaceutical Sciences, Yantai University, Yantai 264000;*
2. Pharmaceutical Preparation Research Center, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

ABSTRACT: Reduction-responsive amphiphilic polymer PEG-SS(O)-SN38 was synthesized by conjugation of polyethylene glycol(PEG_{2000}) and the active metabolite SN-38 of irinotecan by disulphide bonds. Then, the self-assembled micelles were prepared by thin-film dispersion method. The transmission electron microscopy(TEM) observation revealed that the micelles were spherical in shape. The average particle size and polydispersion index measured by dynamic light scattering were (106.3±0.5)nm and 0.19±0.05. The critical micelle concentration(CMC) measured by fluorescence method was (0.070±0.008)mg/ml, suggesting that the formed micelles could maintain structural integrity. The content of SN38 released from the micelles increased to (66.55±0.53)% after incubation for 2 h in the simulated reductive tumor microenvironment *in vitro*. The cumulative release amounts at 48 h of the self-assembled micelles were (50.24±4.53)% in pH 7.4 phosphate buffer(PBS) and (57.43±2.92)% in fetal bovine serum(FBS), which proved that the self-assembled PEG-SS(O)-SN38 micelles had sustained-release effects. In addition, the particle sizes of the self-assembled PEG-SS(O)-SN38 micelles were almost unchanged in PBS for 24 h and in FBS for 8 h. The results showed that the self-assembled PEG-SS(O)-SN38 micelles had good stability in a simulated physiological environment. *In vitro* cytotoxicity showed that the self-assembled PEG-SS(O)-SN38 micelles had a significant growth inhibition effect on human pancreatic cancer(Capan-1) cells. Furthermore, compared with irinotecan hydrochloride injection at the same dose, the self-assembled PEG-SS(O)-SN38 micelles exhibited significant tumor inhibition in the Capan-1 tumor-bearing nude mice without a remarkable decrease in body weight.

Key Words: SN38; irinotecan; PEGylation; self-assembled micelle; reduction responsiveness; stability; anti-tumor; cytotoxicity; pharmacodynamics

伊立替康（irinotecan）是目前治疗晚期大肠癌的一线用药，也是治疗胰腺癌、肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤最有效的化疗药之一。但它存在严重的不良反应，主要表现为较强的骨髓抑制、神经毒性和胃肠道反应[1]，而且在体内转化成活性代谢产物SN38的效率较低[2]，并存在个体差异，这些问题在给患者带来痛苦的同时也限制了临床应用。SN38的抗肿瘤作用是伊立替康的上百甚至上千倍[3]，作用机制是通过抑制拓扑异构酶Ⅰ（Topo-Ⅰ）的活性来诱导肿瘤细胞凋亡。在DNA正常复制时，Topo-Ⅰ可催化双链DNA裂解为单链DNA，然后单链DNA会与Topo-Ⅰ形成可逆的二元复合物；而SN38会与该二元复合物形成不可逆的三元复合物，使DNA复制异常，从而导致肿瘤细胞死亡[4]。虽然SN38抗肿瘤作用强，但水溶性差，在大部分生物相容和药剂学上可接受的溶剂中均难溶，与酸不能成盐，难以成药；并且SN38结构中的抗肿瘤活性关键部位——α-内酯环不稳定，易受环境影响而开环变成羧酸盐，导致活性降低、不良反应增加[5—7]。为解决上述问题，很多科研人员将SN38制成前药或进行剂型改造，如制备成纳米粒、脂质体、脂肪乳、自微乳和聚合物胶束等，以提高药效、减轻不良反应。其中，两亲性共聚物因能在水溶液中自组装形成胶束而受到广泛关注，成为SN38的研究热点[8—9]。

两亲性的嵌段聚合物或表面活性剂分子可在水中自组装形成具有核壳结构的胶束[10]，粒径一般为纳米级。载药胶束可通过增强的渗透和滞留（EPR）效应在肿瘤部位聚集，选择性杀伤肿瘤细胞，从而提高药效，同时减少正常组织中的分布药量而减轻不良反应。自组装胶束运载药物的方式主要分为物理包埋和化学结合。物理包埋往往存在载药量低、稳定性差及批间重复性差等缺点，而化学结合法可获得较高的载药量及稳定性[11]。

聚乙二醇-二硫键-SN38偶联物［PEG-SS(O)-SN38，**1**］是利用化学结合法通过二硫键连接聚乙二醇（PEG_{2000}）和SN38而得，具有两亲性，能在水溶液中自组装形成胶束。本试验采用薄膜分散法制备**1**自组装胶束，期望其能被动靶向到肿瘤组织，随后在肿瘤微环境中二硫键被还原性谷胱甘肽还原而断裂[12]，释放出药物而杀伤肿瘤细胞。通过透射电镜（TEM）、动态光散射（DLS）、高效液相色谱（HPLC）等方法评价了**1**自组装胶束的质量，并利用人胰腺癌（Capan-1）细胞模型评价其药效。

1　仪器与试药

SpectraMax M2/M2e型多功能酶标仪［美谷分子仪器（上海）有限公司］；NanoZS90型粒度分析仪（英国Malvern公司）；TecnaiG2 F20型透射电镜（美国FEI公司）；2695/2489型高效液相色谱仪（美国Waters公司）；Milli-Q型纯水仪（美国Millipore公司）；AVANCE NEO 500兆全数字化核磁共振谱仪（瑞士Bruker公司）；即用型透析袋（截留分子量为1 000，美国光谱医学公司）。

盐酸伊立替康（**2**）注射液［上海创诺制药有限公司，规格2 ml∶40 mg（以三水物计），批号0561200702］；SN38（上海波以尔化工有限公司，含量98%，批号180801）；葡萄糖注射液［华裕（无锡）制药有限公司，批号20030601］；甲氧基聚乙二醇-硫醇（$mPEG_{2000}$-SH，浙江博美生物技术有限公司，批号HS2K200905）；2,2'-二硫二吡啶（上海阿拉丁生化科技有限公司，批号L190U06）；2-巯基乙醇（Alfa Aesa公司，批号10225425）；对硝基氯甲酸苯酯（上海安耐吉化学公司，批号ED190101）；尼罗红（上海百灵威化学技术有限公司，批号L380Q19）；二硫苏糖醇（DTT，批号A0625A）和磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.4，10 mmol/L，批号MA0015-Jun-22FB）（大连美仑生物技术有限公司）；DMEM细胞培养基（美国Gibico公司）；胎牛血清（FBS，上海臻诺生物科技有限公司）；其他试剂为分析纯。

BALB/c裸小鼠（雄性，7～8周，18～20 g，北京华阜康生物科技股份有限公司，动物合格证编号

收稿日期：2021-05-27

作者简介：贾李瑛（1997—），女，硕士，从事药物新剂型的研究开发。

E-mail：jly17865529011@163.com

通信作者：孙考祥（1964—），男，教授，从事药物新剂型与新技术、生物药剂学与药代动力学的研究。

Tel：0535-3808266

E-mail：sunkx@ytu.edu.cn

11401300071357)。

Capan-1 细胞（中国医学科学院基础医学研究所）。

2 方法与结果

2.1 1 的合成和表征

2.1.1 1 的合成

1 的合成路线见图 1。

将 2- 巯基乙醇（140 mg，1.17 mmol）和 2,2'- 二硫二吡啶（600 mg，2.73 mmol）加至甲醇 20 ml 中，室温反应 24 h。反应物减压蒸除甲醇，过硅胶柱纯化、浓缩，减压干燥得 Py-SS-OH。将 Py-SS-OH（485 mg，2.6 mmol）和三乙胺（TEA，101 mg，5.2 mmol）溶于二氯甲烷（DCM）30 ml 中，室温搅拌下缓慢滴加对硝基氯甲酸苯酯（525 mg，2.6 mmol），滴毕，室温反应 3 h。然后将反应物浓缩，过硅胶柱分离、浓缩，减压干燥得 Py-SS（O）-Ni。将 Py-SS（O）-Ni（316 mg，1 mmol）和 SN-38（392 mg，1 mmol）溶于 DCM 20 ml 中，加入过量的 TEA，然后升温至回流反应 5 h。反应完毕后降至室温，萃取，有机相用稀盐酸水洗，再经萃取、干燥、浓缩、经硅胶柱纯化、浓缩、减压干燥得淡黄色固体 Py-SS（O）-SN38。将 $mPEG_{2000}$-SH（1 000 mg，0.5 mmol）溶于 *N*,*N*- 二甲基甲酰胺（DMF）25 ml 中，在氮气保护、搅拌条件下，滴加 Py-SS（O）-SN38（330 mg，0.55 mmol）的 DMF 溶液，室温反应 24 h。反应物减压蒸除 DMF，经硅胶柱纯化、浓缩，得到淡黄色固体 **1**。以上各步产物均通过氢谱确证结构，以反应物 SN38 和 $mPEG_{2000}$-SH 的总量计算，**1** 产率为 69%。

2.1.2 1 的核磁表征

1：^{1}H NMR（500 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.32 ～ 8.11（m, 2H）, 7.79（dd, *J*=9.2、2.5 Hz, 1H）, 7.35（s, 1H）, 6.53（s, 1H）, 5.45（s, 2H）, 5.36（s, 2H）, 4.53（t, *J*=6.2 Hz, 2H）, 3.68（t, *J*=6.3 Hz, 2H）, 3.52（s, 207H）, 3.25（s, 3H）, 3.15（t, *J*=6.2 Hz, 2H）, 2.97（t, *J*=6.3 Hz, 2H）, 1.89（dh, *J*=21.4、7.1 Hz, 2H）, 1.31（t, *J*=7.6 Hz, 3H）, 0.89（t, *J*=7.3 Hz, 3H）。

SN38：^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 10.30（s, 1H）, 8.03（d, *J*=8.8 Hz, 1H）, 7.40（s, 2H）,

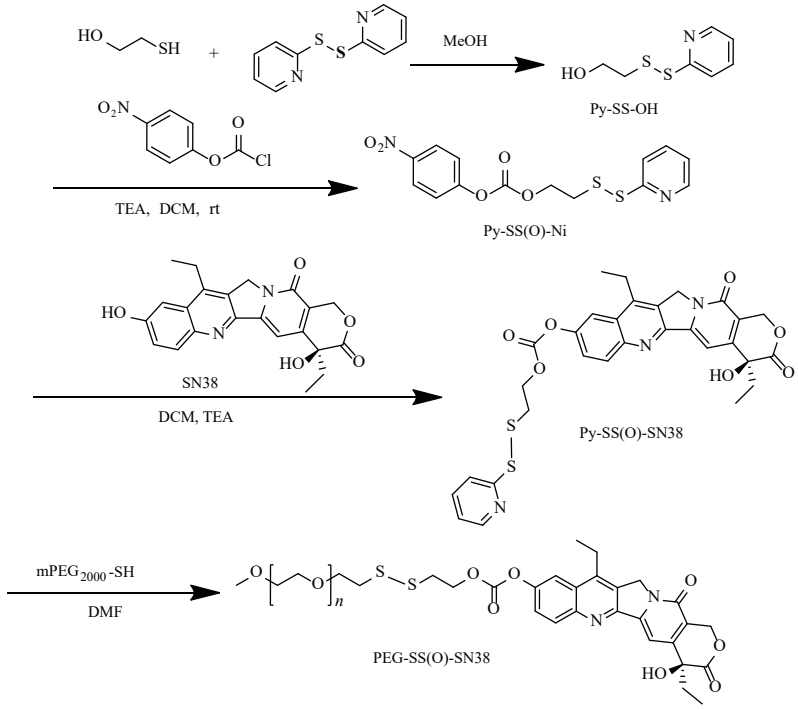


图 1 1 的合成路线

Fig.1 Synthetic Route of **1**

7.25(s, 1H), 6.49(s, 1H), 5.43(d, *J*=1.9 Hz, 2H), 5.27(s, 2H), 3.37(s, 6H), 3.09(q, *J*=7.6 Hz, 2H), 1.87(hept, *J*=7.0 Hz, 2H), 1.30(t, *J*=7.5 Hz, 3H), 0.88(t, *J*=7.3 Hz, 3H)。

化学位移 δ 3.52 处为 PEG 连接臂上的质子峰，δ 4.53 处为二硫键与羰基之间邻近氧原子的烷基质子峰；SN38 图谱中 C_{10}-OH 特征峰（δ 10.30 处）消失而其他峰位置不变。以上结果表明所合成的聚合物即为目标产物 **1**。

2.2 **1** 自组装胶束的制备

取 **1** 15 mg 溶于无水乙醇 2 ml 中，于 40 ℃旋蒸除去乙醇，干燥成膜，加入超纯水 2 ml 并于 55 ℃水化 5 min，在 65 W 下超声 3 min，过 0.22 μm 膜，即可得含有淡蓝色乳光的 **1** 自组装胶束。

2.3 自组装胶束的粒度分布和形态

2.3.1 自组装胶束的粒度分布

取“**2.2**”项下制备的自组装胶束 1 ml，以水适当稀释后利用 DLS 法以激光粒度仪（散射角 90 °、折射率 1.330、测量温度 25 ℃、测量次数 3 次）测定其粒径大小。结果显示 **1** 自组装胶束的平均粒径为 (106.3±0.5) nm (*n*=3)，多分散指数 (PDI) 为 0.19±0.05 (*n*=3)，表明粒度分布较均一（见图 2）。

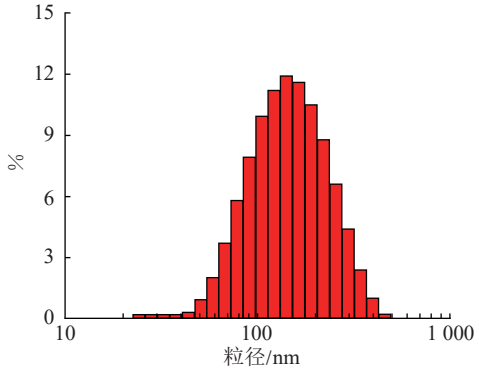


图 2　1 自组装胶束的粒度分布

Fig.2　Particle Size Distribution of **1** Self-assembled Micelles

2.3.2 自组装胶束的形态

将“**2.2**”项下制备的自组装胶束溶液以水适当稀释后滴于碳膜铜网上 2 min，用滤纸吸除铜网周围多余水分，用 0.5%的乙酸铀溶液负染 2 min，用滤纸吸去残留液体，待铜网干燥后用透射电镜观察。所得透射电镜结果显示，**1** 自组装胶束形态规整，外观呈球形或类球形，分散均匀，粒径约 100 nm，与“**2.3.1**”项下的测定结果相近（图 3）。

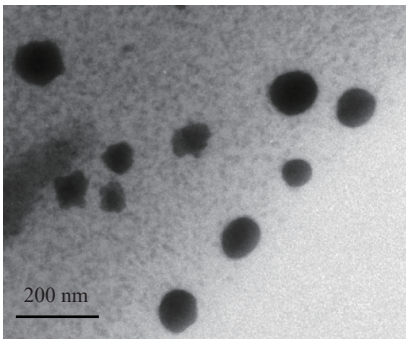


图 3　1 自组装胶束的透射电镜照片（×26 000）

Fig.3　TEM Image of **1** Self-assembled Micelles (×26 000)

2.4 临界胶束浓度（CMC）测定

将尼罗红用 DCM 溶解并配制 1×10^{-4} mol/L 母液，分别取母液 20 μl 置系列离心管中，待 DCM 挥干后加入不同质量浓度（2.5、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001、0.000 5、0.000 1 mg/ml）的 **1** 自组装胶束 2 ml，使尼罗红终浓度为 1×10^{-6} mol/L，超声 40 min 后避光静置 4 h，分别以 543 和 660 nm 作激发波长和发射波长，用酶标仪测定不同质量浓度药物作用下尼罗红的荧光强度，以荧光强度对药物质量浓度作图，拟合曲线的切线的交点即为药物 CMC。结果见图 4。

结果显示 **1** 的 CMC 值为 (0.070±0.008) mg/ml (*n*=3)，表明其稳定性良好。当自组装胶束的浓度低于 CMC 时，检测到的荧光强度均较弱；当自组装胶束的浓度高于 CMC 时，检测到的荧光强度呈突跃式增强。CMC 值越低说明形成的自组装胶束越稳定，因为较低的 CMC 可以保证该体系能在体液稀释的情况下，较好地维持胶束结构的完整性，有效实现被动靶向作用。

2.5 载药量的测定

2.5.1 色谱条件

色谱柱 Waters XBridge C_{18} 柱 (4.6 mm×250 mm,

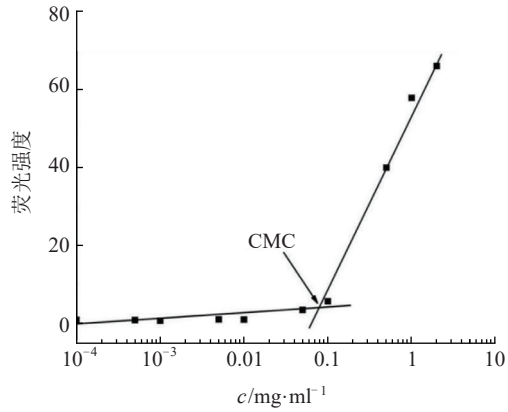


图 4　尼罗红的荧光强度与 1 自组装胶束质量浓度的关系图（n=3）

Fig.4　Relationship between Fluorescence Intensity of Nile Red and Mass Concentration of **1** Self-assembled Micelles (n=3)

5 μm）；流动相 甲醇（A），纯水（B），按表 1 中的程序梯度洗脱；检测波长 265 nm；柱温 30 ℃；流速 1.0 ml/min；进样量 20 μl。

表 1　线性梯度洗脱程序

Tab.1　Gradient Elution Program

t/min	A/%	B/%
0	30	70
8	60	40
15	90	10
16	30	70
20	30	70

2.5.2　载药量

称取 SN38 适量溶解于甲醇并稀释成不同质量浓度的标准溶液，采用 HPLC 法按“**2.5.1**”项下方法测定各溶液的峰面积（A），以 A 为纵坐标、SN38 的质量浓度（c）为纵坐标，绘制标准曲线，所得拟合方程为 A=85 647c+42 674（r=0.999 9），表明 SN38 在 1 ～ 200 μg/ml 范围内线性关系良好。

称取适量 **1**（W）溶解于甲醇中，配制成质量浓度为 1 mg/ml 的 **1** 甲醇溶液，进样测定其峰面积，由上述标准曲线计算 SN38 含量（W_1）。根据文献方法[13]，照下式计算得载药量（LC）为（13.24±0.12）%（n=3）。

$$LC = W_1/W \times 100\%$$

2.6　体外释放试验

采用透析法考察 **1** 自组装胶束中 SN38 的释放行为。取 **1** 自组装胶束 0.5 ml，分别加入等体积的 PBS 和 FBS，置透析袋（截留分子量 1 000）中，两端扎紧，放入 PBS 25 ml 中，在 37 ℃、100 r/min 条件下振摇，分别于 0.5、1、2、4、6、8、24、48 h 时取出释放介质 1 ml（同时补加同温等量的新鲜介质），采用“**2.5.1**”项下条件测定释放介质中 SN38 的含量，计算累积释放率（Q），绘制释放曲线。另取 SN38 适量，以 DMSO 配制成 1 mg/ml 的溶液（与 **1** 自组装胶束中 SN38 的含量相当），同法操作并绘制其释放曲线。结果见图 5。

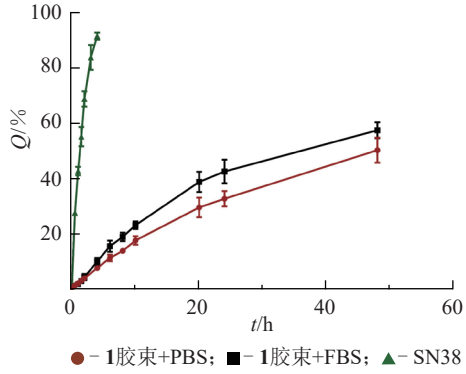


图 5　1 自组装胶束的体外释放行为（n=3）

Fig.5　*In vitro* Release Profiles of **1** Self-assembled Micelles (n=3)

1 自组装胶束在 PBS 和 FBS 中的释放结果显示，24 h 时 **1** 在 PBS 和 FBS 中的累积释放率分别为（32.67±2.77）% 和（42.55±4.27）%，48 h 时则分别为（50.24±4.53）% 和（57.43±2.92）%；而 SN38 溶液在 4 h 可释放（91.53±1.31）%。由此可见，**1** 自组装胶束具有一定的缓释效果，在模拟生理条件下具有一定的稳定性。

2.7　还原响应性考察

以 10 mmol/L DTT 作为还原剂，模拟肿瘤的还原性微环境。DTT 作为还原剂可使二硫键断裂，释出 SN38；随着 DTT 作用时间的延长，SN38 的含量逐渐增加，因此本试验以 SN38 含量的变化来验证 **1** 自组装胶束的还原响应性。

取 **1** 自组装胶束溶液 100 μl，加入 DTT 溶液 900 μl，使 DTT 终浓度为 10 mmol/L、**1** 的最终质量浓度为 5 mg/ml。将其置 37 ℃恒温振荡箱中，于 0（混合后立即取样）、1、2 h 时取样。另以甲醇配制 SN38 质量浓度为 250 μg/ml 的溶液，作为对照。采用“**2.5.1**”项下条件测定样品中 SN38 的含量。**1** 胶束的还原响应性试验结果（图 6）显示，0 h 时几乎检测不到 SN38，而 1、2 h 时 SN38 的含量分别增加到（39.26±2.87）%和（66.55±0.53）%（n=3）。上述结果表明：在模拟的还原性肿瘤微环境中，DTT 能使胶束中的二硫键断裂、释放出 SN38，且随放置时间的延长，SN38 含量增加，验证了 **1** 自组装胶束的良好还原响应性。

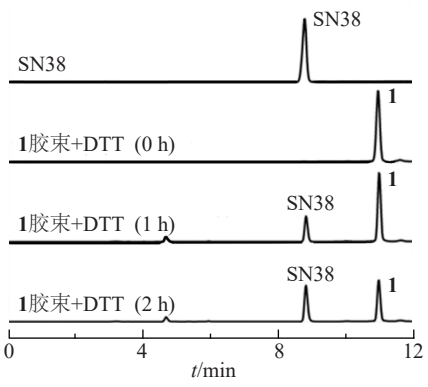


图 6　1 自组装胶束的还原响应性测定结果（n=3）
Fig.6　Determination Results of the Reduction Responsiveness of **1** Self-assembled Micelles（n=3）

2.8　稳定性试验

取 **1** 自组装胶束适量，分别用等体积的 PBS 和 FBS 稀释，于 37 ℃放置，测定不同时间的粒径变化，评价胶束的稳定性，结果见图 7。可见，**1** 自组装胶束与 PBS 孵育后，24 h 内粒径几乎无变化，表明该胶束在 PBS 中具有良好的稳定性；与 FBS 共孵育后，较在 PBS 中时粒径稍有增加，但在初始 8 h 内粒径也几乎不变，表明该胶束在血清中具有较好的稳定性。

2.9　体外细胞毒性试验

取对数生长期的 Capan-1 细胞，通过 MTT 法考察 **1** 自组装胶束的细胞毒性。

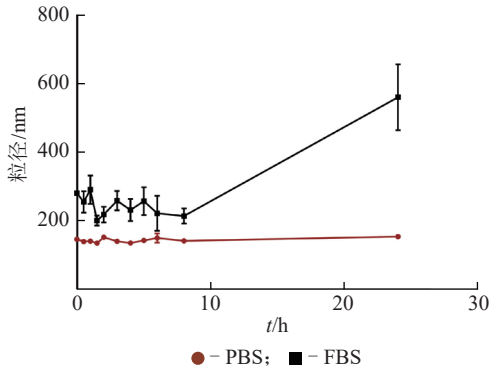


图 7　1 自组装胶束的稳定性考察（n=3）
Fig.7　Investigation on Stability of **1** Self-assembled Micelles（n=3）

将 Capan-1 细胞以每孔 5×10^3 个的密度接种于 96 孔板中，加入培养液 100 μl，置 37 ℃、5% CO_2 的培养箱内培养 24 h，分别加入不同浓度（100、10、1、0.1、0.01 和 0.001 μmol/L）的 **1** 自组装胶束溶液和 **2** 注射液，每组设 6 个复孔，以培养液组为空白对照组。48 h 后，每孔加入 5 mg/ml MTT 溶液 20 μl 继续孵育 3 ～ 4 h，弃去上清液。每孔加入 DMSO 100 μl，低速振荡 15 min 使蓝紫色沉淀充分溶解后，使用酶标仪于 570 nm 测定各孔的吸光值（OD），计算各组细胞存活率，结果见图 8。

$$细胞存活率=OD_{加药组}/OD_{对照组}\times100\%$$

从图 8 可见，**1** 自组装胶束和 **2** 对 Capan-1 细胞的毒性均具有浓度依赖性，随着药物浓度的增加，细胞毒性增加。孵育 48 h 后，**1** 自组装胶束和 **2** 的 IC_{50} 值分别为 0.26 和 15.48 μmol/L。**1** 自组装胶束的 IC_{50} 值较低，推测可能是因为 **1** 自组装胶束可显著提高细胞对药物的摄取，且进入细胞后的胶束可释放出 SN38，从而表现出较强的细胞增殖抑制活性。

2.10　体内抗肿瘤活性试验

2.10.1　试验方法

Capan-1 细胞以 DMEM 高糖 +10% FBS+ 双抗（青霉素 - 链霉素溶液）扩增培养，接种前细胞密度调整为每毫升 1.3×10^7 个。在裸小鼠右腋下靠背部接种 Capan-1 细胞悬液 0.2 ml（含 2.6×10^6 个）。待肿瘤体积生长至 130 mm^3，随机分为 7 组，每组

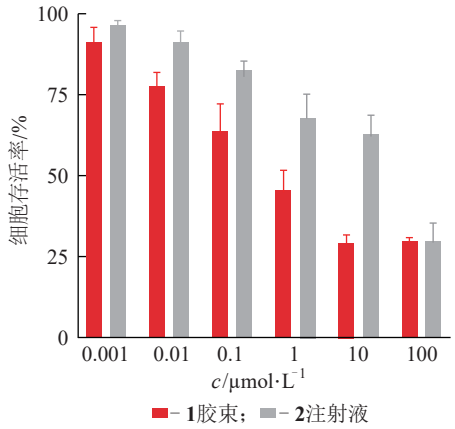


图 8　1 自组装胶束对 Capan-1 细胞的细胞毒性（*n*=6）

Fig.8　*In vitro* Cytotoxicity of **1** Self-assembled Micelles against Capan-1 Cells (*n*=6)

7 只。经尾静脉注射给药，每周给药 2 次。分组及给药方案如下：5%葡萄糖注射液为空白对照组（A 组），10 和 20 mg/kg 的 **2** 注射液为阳性对照组（B 和 C 组），不同剂量（2.5、5、10 和 20 mg/kg）的 **1** 自组装胶束为供试品组（D ～ G 组）。

每隔 3 天测定肿瘤长径（D_1）、短径（D_2）及体质量，计算肿瘤体积（TV=$D_1\times D_2^2/2$）。应用 GraphPad Prism 8.0.1 软件以单因素方差分析法比较组间差异。

2.10.2　1 自组装胶束的体内试验结果和分析

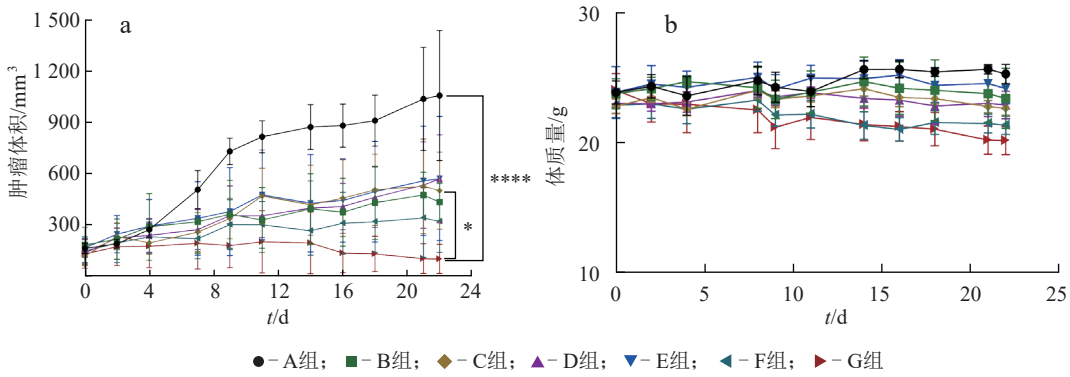
各组裸小鼠的肿瘤体积测量结果见图 9a，体质量变化见图 9b。

如图 9a 所示，裸小鼠尾静脉注射不同剂量的 **1** 自组装胶束均对 Capan-1 移植瘤有生长抑制作用，且抑制效果随剂量升高而增强。2.5 和 5 mg/kg 的 **1** 自组装胶束对 Capan-1 移植瘤的抑制作用与 10 和 20 mg/kg 的 **2** 注射液相当；10 和 20 mg/kg 的 **1** 自组装胶束对 Capan-1 移植瘤具有更显著的生长抑制作用；其中，20 mg/kg 的 **1** 自组装胶束与同剂量 **2** 注射液相比，具有更强的肿瘤生长抑制作用（P<0.05）。通过小鼠体质量的结果（图 9b）可知，裸小鼠尾静脉注射不同剂量的 **1** 自组装胶束后未出现体质量急剧下降的现象，从一定程度上反映出 **1** 自组装胶束的安全性较好，无明显毒性。

3　讨论

本试验以具有还原响应性的二硫键将亲水性嵌段 PEG_{2000} 和疏水性基团 SN38 连接，所得的 **1** 在水溶液中能自组装形成胶束，解决了 SN38 水溶性和脂溶性均差、成药难的问题，也可利用 EPR 效应被动靶向到肿瘤组织，从而提高 SN38 的抗肿瘤活性，减轻其不良反应。此外，**1** 中 PEG_{2000} 产生的空间位阻有利于提高 SN38 内酯环的稳定性，减少 SN38 在生理条件下开环形成无药理活性羧酸盐形式的情况。

1 自组装胶束的 CMC 较低，表明其稳定性良好，即使在体液稀释的情况下，仍能较好地维持该胶束的结构完整性。在 PBS 和 FBS 中的体外释放试验和稳定性试验结果验证了 **1** 自组装胶束在模拟



注：* 表示 G 组与 C 组相较，有显著差异（P<0.05），**** 表示 G 组与 A 组相较，有极显著差异（P<0.000 1）

图 9　荷 Capan-1 瘤裸小鼠的肿瘤体积（a）和体质量（b）变化图（*n*=7）

Fig.9　Changes in Tumor Volume (a) and Body Weight (b) of Capan-1 Tumor-bearing Nude Mice (*n*=7)

生理条件下具有良好的稳定性，这为**1**自组装胶束体内药效的发挥打下了良好的基础。药效试验结果显示，**1**自组装胶束（2.5 mg/kg）的抗肿瘤效果与阳性对照药（20 mg/kg）相当；相同剂量（20 mg/kg）下，**1**自组装胶束的抗肿瘤活性显著优于阳性对照药（P<0.05），且裸小鼠体质量没有明显下降，提示**1**自组装胶束无明显毒性，具有潜在的临床应用前景，有进一步研发的潜力。

参考文献：

[1] LIU X, HUANG Q, YANG C, *et al*. A multi-stimuli responsive nanoparticulate SN38 prodrug for cancer chemotherapy [J]. *J Mater Chem B*, 2017, **5**(4): 661-670.

[2] BALA V, RAO S, BOYD B J, *et al*. Prodrug and nanomedicine approaches for the delivery of the camptothecin analogue SN38 [J]. *J Control Release*, 2013, **172**(1): 48-61.

[3] LIN C C, TONG F, LIU R, *et al*. GSH-responsive SN38 dimer-loaded shape-transformable nanoparticles with iRGD for enhancing chemo-photodynamic therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, **10**(12): 2348-2361.

[4] 刘　寻. 新型7-乙基-10-羟基喜树碱纳米输送系统的制备及体内外研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2017.

[5] WU Z Z, LI S, CAI Y Y, *et al*. Synergistic action of doxorubicin and 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin polyphosphorylcholine polymer prodrug [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, **189**: 110741.

[6] 刘　怡. 壳聚糖-SN38大分子前药胶束给药系统的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学博士学位论文, 2015.

[7] RANNEH A H, IWAO Y, NOGUCHI S, *et al*. The use of surfactants to enhance the solubility and stability of the water-insoluble anticancer drug SN38 into liquid crystalline phase nanoparticles [J]. *Int J Pharm*, 2016, **515**(1/2): 501-505.

[8] 邓彩赟, 蒋成君, 张晓敏, 等. SN38前药及其新剂型研究进展[J]. 中国药房, 2016, **27**(28): 4005-4009.

[9] 魏　培. 载喜树碱普朗尼克/TPGS混合胶束的制备与质量评价[J]. 药学研究, 2021, **40**(1): 29-34.

[10] 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.

[11] 李媛媛, 孙祥科, 李　伟, 等. 聚合物胶束载药体系研究进展[J]. 化学与生物工程, 2018, **35**(5): 1-4.

[12] 张　英. 还原敏感型米铂纳米胶束的制备及评价 [D]. 青岛: 青岛大学硕士学位论文, 2016.

[13] 邵艳寻, 郭切切, 张舒迪, 等. 乳糖酸修饰的黄芩苷自组装胶束载药系统的制备及体外评价[J]. 中草药, 2021, **52**(20): 6216-6225.