

PHBV/葡聚糖纳米药物载体的制备及表征*

刘海蓉^{1,3†}, 张清卿^{1,3}, 周征², 胡薏冰⁴, 张水寒⁴, 戴瑶^{1,3}, 李永生^{1,3}

(1. 湖南大学 材料科学与工程学院, 湖南 长沙 410082; 2. 湖南大学 生物学院, 湖南 长沙 410082;
3. 喷射沉积技术及应用湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410082; 4 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410013)

摘要:两亲性聚合物纳米颗粒作为疏水性抗肿瘤药物载体因其能够增强化疗效率并降低毒副作用而受到广泛关注. 采用双乳液溶剂挥发法制备了聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基戊酸酯)(PHBV)/葡聚糖纳米颗粒, 测得平均粒径为 205.0 ± 6.9 nm, Zeta 电势为 -1.59 ± 0.12 mV, 纳米颗粒具有明显的壳核结构, 粒径均一, 分散性良好. 将疏水性化疗药物顺铂包载后, 其粒径及电势均无明显变化, 载药量达 $19.3 \pm 2.9\%$. 顺铂在模拟肿瘤细胞环境 pH = 5.5 的磷酸盐缓冲液(PBS)中比正常细胞环境 pH = 7.4 时释放更快, 且累计释放周期均长达 7 d 以上, 表明该药物载体具有一定的 pH 响应性以及优异的缓释性能. 细胞集落形成实验表明 PHBV/葡聚糖纳米药物载体具有良好的生物相容性, 而载药纳米颗粒对肿瘤细胞的毒性明显高于正常细胞, 表明该纳米颗粒对肿瘤细胞具有更强的杀伤作用. 综上所述, PHBV/葡聚糖纳米颗粒具有两亲性分子结构, 合适的粒径及 Zeta 电势, 显著的缓释效果, 对肿瘤细胞具有 pH 响应性及更强的杀伤作用等优势, 有望成为一种新型纳米药物载体, 在癌症化疗中显著提高药物利用率并降低毒副作用.

关键词:PHBV; 葡聚糖; 纳米颗粒; 药物载体; 体外药物释放; 细胞毒性

中图分类号:R943; O636

文献标志码:A

Fabrication and Characterization of Novel PHBV/dextran Nanoparticles Drug Delivery System

LIU Hairong^{1,3†}, ZHANG Qingqing^{1,3}, ZHOU Zheng², HU Yibing⁴,
ZHANG Shuihan⁴, DAI Yao^{1,3}, LI Yongsheng^{1,3}

(1. College of Materials Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China; 3. Hunan Province Key Laboratory for Spray Deposition Technology and Application, Hunan University, Changsha 410082, China; 4. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, China)

Abstract: Amphiphilic polymer nanoparticles have attracted considerable attention especially as anti-cancer drug delivery system, since they can enhance bioavailability and reduce side effects of drugs used for chemotherapy. Novel poly (3-hydroxybutyric-co-3-hydroxyvaleric, PHBV)/dextran nanoparticles (PD-

* 收稿日期:2017-01-17

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(2016JJ2023), National Natural Science Foundation of Hunan Province(2016JJ2023); 湖南省科技计划项目(2015TP1035); 湖南省研究生创新基地(2014-2017); 湖南大学交叉学科研究项目(2014JCA09)

作者简介:刘海蓉(1971-), 女, 湖南衡阳人, 湖南大学研究员, 博士

† 通讯联系人, E-mail: liuhairong@hnu.edu.cn

NPs) drug delivery system was formulated via an original double emulsion ($w_1/o_1/w_2$) solvent-evaporation method. The mean diameter of PDNPs was 205.0 ± 6.9 nm and their zeta potential was -1.59 ± 0.12 mV by using dynamic light scattering (DLS) detection. PDNPs showed obvious core-shell structure with uniform particle dispersion. Cisplatin, as a model anticancer drug, was loaded to demonstrate the characterizations of the drug delivery system, and its loading did not significantly alter the hydrodynamic diameter and zeta potential of nanoparticles with $19.3 \pm 2.9\%$ of drug loading content (DLC). In-vitro drug release profile of cisplatin from cisplatin-loaded PDNPs found that it can be released faster in normal cells ($\text{pH} = 7.4$) than cancer cells ($\text{pH} = 5.5$) in phosphate buffered saline (PBS), and the release period was more than 7 d, which demonstrated that this drug delivery system was pH-responsive and with excellent slow-release performance. PDNPs displayed no cytotoxicity, and cisplatin-loaded PDNPs exhibited higher killing efficient to cancer cells when compared with normal cells, which indicated this nano-delivery system can kill cancer cells more effectively. Thus, the novel PDNPs drug delivery system can be potentially applied for cancer chemotherapy, which will improve the utilization ratio and reduce side effect of drugs in the cancer chemotherapy.

Key words: PHBV; dextran; nanoparticles; drug delivery system; drug release in vitro; cytotoxicity

随着药物载体的发展,两亲性聚合物纳米颗粒作为抗肿瘤化疗药物载体的研究受到广泛关注^[1-2],两亲性聚合物纳米药物载体具有以下优势:将疏水性药物有效包载从而提高药物在水溶液中的溶解度,同时避免传统复合溶媒或增溶剂产生的毒副作用^[3];表面亲水性可防止纳米颗粒被内皮网状系统识别排异从而延长药物体内循环时间^[1,2,4-5];通过肿瘤组织特有的高渗透及滞留效应(Enhanced Permeation Retention effect, EPR)^[6]被动靶向到肿瘤组织,增加肿瘤部位血药浓度;通过聚合物载体的降解将药物缓慢释放,有效避免药物突释现象并延长药物作用时间,从而提高化疗药物的治疗效率,降低体内非特异性药物分布从而减轻对正常组织的伤害,降低毒副作用^[7]。

药物载体材料必须具有良好的生物相容性,生物可降解性及进入血液循环后相对稳定的物理性质^[8]。常用的药物载体材料包括聚己内酯,多糖,聚丙烯酸,聚羟基脂肪酸等^[5]。聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基戊酸酯)(Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV)是由原核微生物合成的天然高分子共聚物,具有良好的生物相容性及生物可降解性^[9],广泛应用于抗肿瘤药物载体系统^[10-11]及生物材料领域^[12-13]。Cristian Vilos等^[10]将PHBV用于构建疏水性化疗药物紫杉醇的纳米载体,并通过分子动力学方法模拟PHBV的降解过程从而解释了紫杉醇在PHBV中的缓释行为。Farha Masood等^[11]研究表明将化疗药物玫瑰树碱包载于

PHBV纳米颗粒后较游离药物对肿瘤细胞的抑制作用显著增强,化疗效率明显提高。然而在血液循环过程中,疏水性的物质易与调理素结合,并被网状内皮系统识别排异^[1],为了提高PHBV的体内循环时间,使其到达肿瘤组织,在PHBV表面包覆一层亲水性物质成为一种很好的策略。葡聚糖是由多个以 $\alpha(1 \rightarrow 6)$ 键合的葡萄糖分子聚合而成的低聚糖,具有良好的生物相容性、生物可降解性和无免疫原性,作为血浆替代品至今超过五十年,也是注射用药的成分之一,且葡聚糖本身不带电荷^[5,7,12,14],在药物载体领域受到广泛研究。

抗肿瘤化疗药物以疏水性药物居多,如常用的顺铂,紫杉醇,阿霉素等。临床化疗方案中顺铂的使用频率超过50%。顺铂具有较强的广谱抗癌作用,但其毒副作用明显,如肾毒性、耳毒性、神经毒性等,且容易与其他药物产生交叉耐药性。用药物载体将其包载后,可增加其溶解度,被动靶向到肿瘤组织以提高药效,降低正常组织中的药物分布从而降低毒副作用^[15-16]。

本文采用双乳液溶剂挥发法制备了PHBV/葡聚糖纳米药物载体,通过正交实验优化纳米颗粒粒径制备参数,对其成分、粒径、Zeta电势、形貌以及生物相容性进行表征后,通过分子间疏水作用将化疗药物顺铂包载其中,通过对载药量、包封率、体外模拟药物累计释放效率,以及载药纳米颗粒对正常细胞和肿瘤细胞的毒性进行表征,以此评估PHBV/葡聚糖纳米颗粒作为药物载体在癌症化疗中的

应用前景.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

PHBV($M_w=300\ 000$, 3% HV), 宁波天安生物材料有限公司, 结构式见图 1(a); 葡聚糖($M_w=20\ 000$), 生化试剂, 国药集团化学试剂有限公司, 结构式见图 1(b); 聚乙烯醇 124 (PVA, $M_w=105\ 000$), 分析纯, 西陇化工股份有限公司; 二氯甲烷(CH_2Cl_2), 分析纯, 天津市富起化工有限公司; 丙酮, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 顺铂(>99%), 武汉纽拜尔医药科技有限公司; 甲醇, 生工生物工程股份有限公司; DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基, 胎牛血清, Gibco; RPMI 1640 培养基, Hyclone; 双抗(青霉素和链霉素), 胰蛋白酶, 结晶紫, 北京鼎国生物技术有限公司; 细胞培养皿, Greiner bio-one.

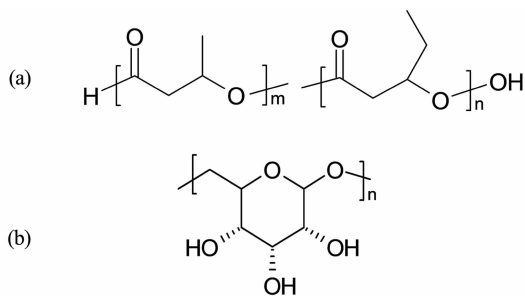


图1 PHBV (a)和葡聚糖(b)的分子结构式
Fig.1 Structure of PHBV(a) and dextran(b)

电子天平, FA1104, 上海天平仪器厂; 集热式恒温加热磁力搅拌器, DF-101S, 广州市星烁仪器有限公司; 超声波细胞破碎仪, SM-150D, 南京舜码仪器设备有限公司; 傅里叶红外光谱仪, Nexus, Thermo Nicolet; 纳米粒径及 Zeta 电位仪, Nano-ZS, Malvern; 透射电子显微镜, Tecnai G2 F20, FEI; 高效液相色谱仪(HPLC), Agilent 2000, American; 万能倒置显微镜, IX71, OLYMPUS; 生物安全柜, HF-1200, 中国力新发展有限公司; CO_2 培养箱, BB15, Thermo.

1.2 实验过程

1.2.1 PHBV/葡聚糖纳米颗粒的制备

采用新型双乳液溶剂挥发法制备 PHBV/葡聚糖纳米颗粒, 该方法操作简单, 无有毒试剂残留, 粒径易于控制, 且纳米颗粒收率较高, 是一种理想的纳米药物载体制备方法.

将 PHBV 加入二氯甲烷中, $63\ ^\circ\text{C}$ 恒温水浴 10 min 使其溶解. 将 10 mg/mL 葡聚糖水溶液与一定量的丙酮混合均匀, 然后以 1:3 体积比加入 PHBV/二氯甲烷溶液, 在冰浴条件下超声破碎形成初乳(w_1/o_1) (超声参数: 功率 120 W, 工作时间 2 s, 间隔时间 3 s, 超声时长 5 min) 再按 1:3 体积比加入 5 mg/mL 的 PVA 水溶液, 超声破碎形成复乳($w_1/o_1/w_2$), 最后将复乳倒入一定体积 0.5 mg/mL PVA 水溶液中, 缓慢搅拌直至有机溶剂挥发完全, 通过进一步离心、洗涤、重悬, 得到分散在水中的 PHBV/葡聚糖纳米颗粒.

1.2.2 顺铂药物包封实验

通过分子间疏水作用将顺铂包封于 PHBV/葡聚糖纳米颗粒的疏水内核中, 具体操作如下: 在 PHBV/葡聚糖纳米颗粒的制备过程中, 将顺铂加入葡聚糖水溶液加热使其溶解, 再与丙酮混合均匀后与 PHBV/二氯甲烷溶液混合超声形成初乳, 后期实验步骤同上.

1.2.3 顺铂药物包封率及体外释放效率的测定

将载药纳米颗粒离心收集时的上清液作为试样, 通过高效液相色谱仪(HPLC)检测游离顺铂的浓度, 得到游离的顺铂药物质量, 计算出顺铂药物在纳米颗粒中的包封率及载药量^[17].

包封率(%) = (顺铂投入总量 - 游离顺铂质量) / 顺铂投入总量 $\times 100\%$ (1)

载药量(%) = (顺铂投入总量 - 游离顺铂质量) / 收集的载药纳米颗粒质量 $\times 100\%$ (2)

顺铂药物体外释放实验: 将 4 mg 载顺铂纳米颗粒分散于 8 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)后转移到透析袋中, 加入 9 倍体积 PBS 释放介质, 在摇床中于 $37\ ^\circ\text{C}$ 以 $100\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温震荡, 于不同时刻取出 2 mL 释放介质作为样品, 并加入等量新鲜介质, 用 HPLC 检样品中顺铂浓度, 并计算其累计释放效率. 色谱条件: 流动相: 10% 甲醇, 90% 水; 流量体积: 1 mL/min; 检测波长: 210 nm; 进样量: 20 μL ; 色谱柱型号: C-185 μm (250 mm \times 4.6 mm).

1.2.4 细胞集落形成实验

细胞集落形成实验是一种全面评价细胞毒性的实验方法^[18-19], 具体实验操作如下: 吸去细胞培养皿中培养液, 使用 PBS 清洗细胞, 加入含有 EDTA 的胰蛋白酶消化细胞后加入适量培养液制成细胞悬液, 使用细胞计数板进行细胞计数. 将含有 500 个细胞的悬液加入含有 8 mL 新鲜培养液的培养皿中(直径 8 cm), 将其均匀分散后放置于细胞培养箱

中. 细胞贴壁 4 h 后, 分别加入等量的空白及载药 PHBV/葡聚糖纳米颗粒. 于培养箱中处理 24 h 后, 使用 37 °C 预热的 PBS 将纳米颗粒洗净, 然后加入新鲜培养液培养. 每三天换一次液, 并在显微镜下观察, 当培养皿中出现 30~50 个细胞组成的细胞集落时取出细胞房, 使用 PBS 洗去残留的培养液, 加入 -20 °C 预冷的甲醇, 处理 2~3 min, 固定细胞. 弃去甲醇, 加入 1% 的结晶紫溶液(甲醇: 蒸馏水体积比为 1:1), 室温染色 20~30 min. 染色完毕后使用蒸馏水清洗培养皿, 洗去结晶紫溶液. 被染成紫色的细胞集落清晰可见, 肉眼观察对集落进行计数, 计算细胞生存率.

2 结果与讨论

2.1 纳米颗粒的化学成分分析

通过傅立叶红外光谱法对 PHBV、葡聚糖以及制备的纳米颗粒进行成分分析, 结果如图 2 所示, 红外图谱 2(a) 中 1 724 cm^{-1} 为 PHBV 典型的羰基(C=O)伸缩振动峰, 1 280 cm^{-1} 为 C-O-C 的伸缩振动峰, 2 983 cm^{-1} , 2 934 cm^{-1} , 2 890 cm^{-1} 分别为 -CH₃, -CH₂, -CH 的反对称伸缩振动峰. 红外图谱 2(b) 中 3 430 cm^{-1} 为葡聚糖典型的羟基(-OH)伸缩振动峰. 制备的纳米颗粒中含有明显的羰基及羟基伸缩振动峰, 表明其化学成分由 PHBV 和葡聚糖构成, 如图 2(c) 所示.

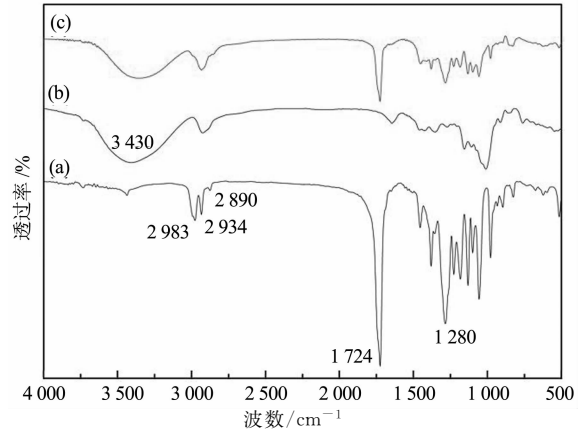


图 2 红外光谱对比图: PHBV(a), 葡聚糖(b), PHBV/葡聚糖纳米颗粒(c)

Fig. 2 FTIR spectra of PHBV(a), dextran(b) and PHBV/dextran nanoparticles(c)

2.2 纳米颗粒的粒径及形貌分析

粒径作为药物载体系统的重要参数, 以 PHBV/葡聚糖纳米颗粒粒径为考量标准, 将 PHBV 浓度、丙酮用量、初乳/外水相体积比作为参变量, 通过三因素三水平正交实验, 确定最佳纳米颗粒粒径的制备参数, 由表 1 分析可知, PHBV/葡聚糖纳米颗粒平均粒径随 PHBV 浓度增大而增大, 随丙酮用量增大而减小, 随初乳/外水相体积比增大而减小, 且初乳/外水相体积比对颗粒粒径影响最大, PHBV 浓度次之, 丙酮用量对于颗粒粒径影响较小, 由此确定最佳实验参数为: PHBV 浓度为 3 mg/mL, 丙酮用量为 4 mL, 初乳/外水相体积比为 1:6.

表 1 PHBV/葡聚糖纳米颗粒平均粒径正交实验表
Tab. 1 The mean size of PHBV/dextran nanoparticles by orthogonal experiment

编号	PHBV 浓度 / (mg · mL ⁻¹)	丙酮用量 / mL	初乳/外水相 体积比	平均粒径 / nm	多分散系数 / (PdI)
1	3	1	1:4	281.2 ± 15.2	0.052 ± 0.03
2	3	2	1:2	280.8 ± 10.8	0.045 ± 0.05
3	3	4	1:6	205.0 ± 6.9	0.038 ± 0.12
4	6	1	1:2	321.4 ± 21.4	0.046 ± 0.07
5	6	2	1:6	257.6 ± 14.6	0.026 ± 0.04
6	6	4	1:4	269.0 ± 12.5	0.025 ± 0.06
7	9	1	1:6	272.0 ± 23.6	0.031 ± 0.02
8	9	2	1:4	263.6 ± 15.8	0.063 ± 0.05
9	9	4	1:2	361.6 ± 31.4	0.161 ± 0.17

最佳实验参数下制备出 PHBV/葡聚糖纳米颗粒粒径为 205.0 ± 6.9 nm (如图 3(a) 所示), 粒径分布均匀, Zeta 电势为 -1.59 ± 0.12 mV (如图 3(b) 所示). 有研究表明带正电荷的药物载体系统在静脉注射后

易与带负电荷的血清白蛋白形成聚合物而被吞噬细胞识别排斥, 而表面不带电荷的药物载体系统则能有效降低血浆蛋白的吸附并提高细胞的非特异性摄取效率^[20]. 通过透射电镜观察纳米颗粒粒径及形貌, 结

果如图 3(c)(d)所示,纳米颗粒形貌圆润,呈现出两亲性纳米颗粒明显的壳核结构.粒径均匀且粒径大小与动态光散射法测试结果一致,由于肿瘤组织内皮细胞

间隙约为 8~400 nm,且药物释放效率与载体尺寸相关,故药物载体的粒径为 200 nm 左右时,既能满足大多肿瘤模型的 EPR 效应,又具有较长的缓释周期^[21].

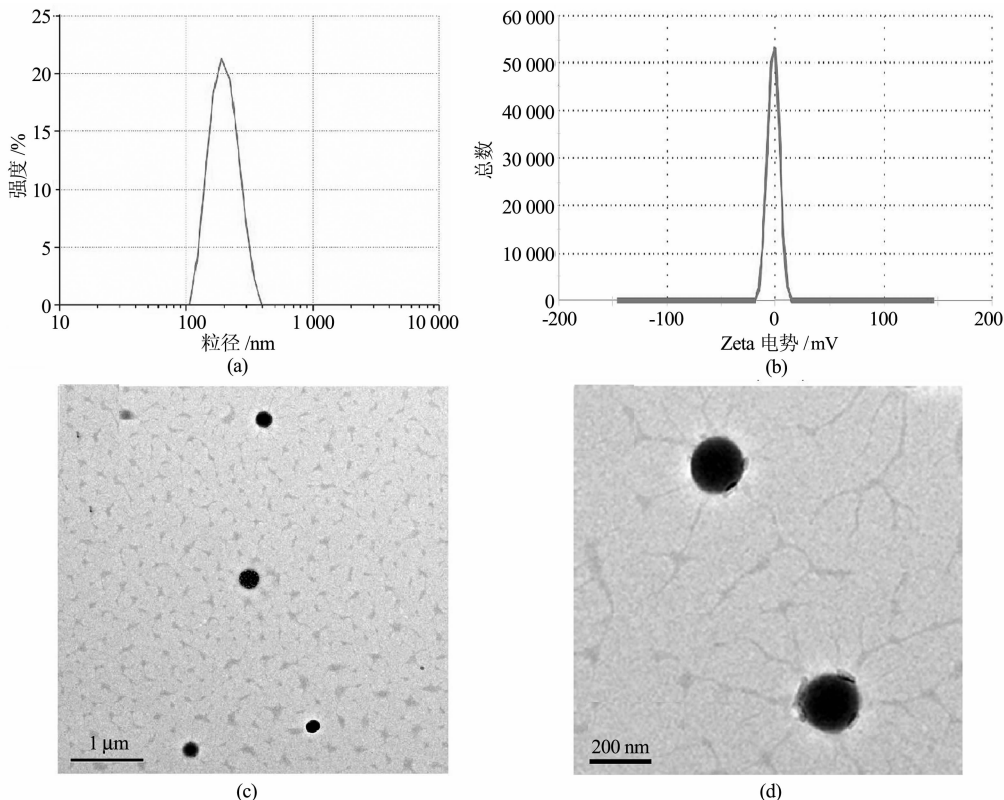


图 3 PHBV/葡聚糖纳米颗粒粒径分布图(a),Zeta 电势分布图(b),TEM 形貌图(c)(d)

Fig. 3 Size distribution analysis(a) and zeta potential analysis(b) and TEM images of PDNPs(c)(d)

2.3 纳米颗粒对顺铂药物的包载及其体外释放

顺铂作为一种常用化疗药物,通过疏水作用使顺铂包封于 PHBV/葡聚糖纳米颗粒的疏水内核,通过加入不同质量的顺铂探讨其对包封率及载药量的影响,结果表明(如表 2 所示),随着顺铂投入质量的增加,载药量随之增大,但包封率会相对降低,粒

径略微增大,而 Zeta 电势无明显变化.当顺铂与 PHBV 质量比为 30%时,载药量可达 $19.3 \pm 2.9\%$,包封率为 $51.5 \pm 7.7\%$.同时考虑顺铂药物的利用效率与纳米颗粒的包载能力,选用顺铂投入质量为 PHBV 质量的 30%条件下的载药纳米颗粒进行后期研究.

表 2 PHBV/葡聚糖纳米颗粒包载顺铂后的理化表征

Tab. 2 Characteristics of cisplatin-loaded PHBV/dextran nanoparticles

编号	顺铂:PHBV/ %	载药量/%	包封率/%	平均粒径/nm	Zeta 电势/mV	多分散系数
1	0	—	—	205.0 ± 6.9	-1.59 ± 0.12	0.038 ± 0.12
2	10	8.5 ± 1.8	65.2 ± 8.5	225.2 ± 10.8	-1.05 ± 0.04	0.230 ± 0.17
3	20	14.8 ± 3.5	62.7 ± 5.9	229.6 ± 8.9	-1.34 ± 0.07	0.190 ± 0.22
4	30	19.3 ± 2.9	51.5 ± 7.7	231.7 ± 21.0	-0.74 ± 0.06	0.208 ± 0.09

体外药物释放效率如图 4 所示,顺铂水溶液(游离顺铂)在 pH=5.5 或 7.4 时快速扩散到整个介质中,释放周期小于 12 h,而顺铂包封于 PHBV/葡聚糖纳米颗粒后,药物初始阶段的突释现象显著降低,且在正常组织环境 pH=7.4 时释放缓慢,7 d 累计释放量约为 60%,而在肿瘤组织环境 pH=5.5 时

释放较快,7 d 累计释放约 80%.PHBV/葡聚糖纳米药物载体表现出的 pH 响应性主要得益于 PHBV/葡聚糖纳米颗粒在酸性环境下比在中性环境下具有更快的溶胀速率,而使小分子药物通过渗透作用得以释放^[22].综上所述,PHBV/葡聚糖载药纳米颗粒在减少药物初始阶段突释效应而降低对正常细

胞的毒副作用,并且通过延长药物缓释时间减少化疗用药次数、用药剂量并提高化疗药物治疗效率.且药物载体具有一定的 pH 响应性,在正常组织中释放缓慢,而在肿瘤组织中具有较快的释放效率,对于化学治疗中降低对正常组织的杀伤作用,以及增强对肿瘤组织的治疗效果具有重大意义.

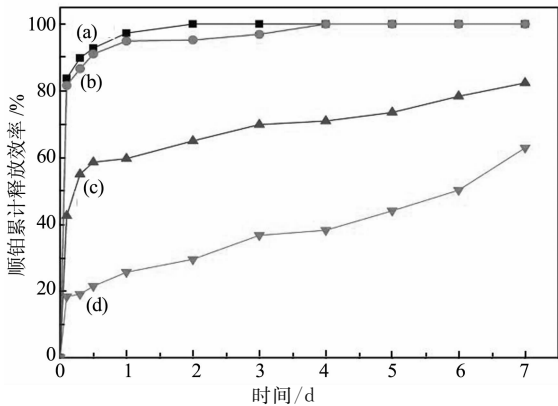


图 4 游离顺铂(a)(b)及顺铂在 PHBV/葡聚糖纳米载体(c)(d)中于 pH=5.5(a)(c)和 pH=7.4 (b)(d)的 PBS 中累计释放效率

Fig. 4 In vitro drug release profile of free cisplatin (a)(b) and cisplatin-loaded PDNPs (c)(d) in PBS at pH=5.5(a)(c) and pH=7.4 (b)(d)

2.4 纳米颗粒的细胞毒性

细胞集落形成实验是一种全面评价细胞毒性的手段,为了验证 PHBV/葡聚糖纳米颗粒作为药物载体的生物相容性及载药纳米颗粒的细胞毒性,采用人体宫颈癌细胞 HeLa 以及人体正常肝细胞 L02 作为细胞模型进行实验.结果如图 5(a)所示,在空白纳米颗粒浓度高达 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞存活率仍达到 80%以上,表明 PHBV/葡聚糖纳米颗粒对正常细胞以及肿瘤细胞均表现良好的生物相容性.图 5(b)(c)显示同等浓度下载药纳米颗粒对正常细胞的杀伤作用明显小于肿瘤细胞,具有显著性差异,表明该载药纳米颗粒对肿瘤细胞具有更强的杀伤作用,作用机制与肿瘤细胞对葡萄糖的代谢更加旺盛有关,由于纳米颗粒表面的葡聚糖水解产生大量葡萄糖,从而增加肿瘤细胞对纳米颗粒的摄取,导致更高浓度的顺铂药物作用,从而对肿瘤细胞产生更强的抑制效果^[23].综上所述,PHBV/葡聚糖纳米颗粒作为一种新型纳米制剂,具有良好的生物相容性及对肿瘤细胞更强的杀伤作用,有望在癌症化疗中发挥更好的治疗效果.

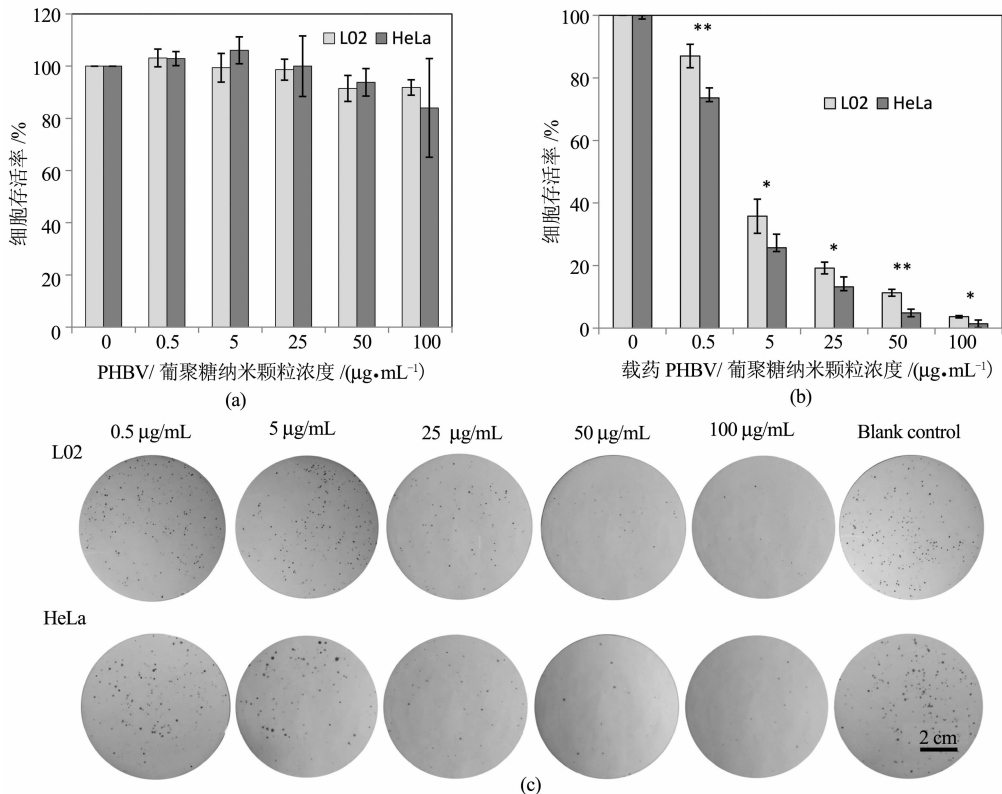


图 5 PHBV/葡聚糖纳米颗粒(a),和载药纳米颗粒(b)(c)孵育 24 h 对 L02 和 HeLa 的细胞存活率 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$)

Fig. 5 In vitro cytotoxicity of blank (a) and cisplatin-loaded PDNPs

(b)(c) in L02 and HeLa cells after incubation for 24 h. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$)

3 结 论

两亲性聚合物纳米药物载体在提高化疗药物药效的同时降低毒副作用,对于癌症治疗具有重要意义。通过双乳液溶剂挥发法制备的新型 PHBV/葡聚糖纳米药物载体,其粒径均一,表面几乎不带电荷,呈明显壳核结构状的球形颗粒。通过对疏水性化疗药物顺铂的包载,该载药纳米颗粒具有较高的包封率及载药量,且体外缓释效果显著,对正常细胞和肿瘤细胞的 pH 环境具有明显的响应性,且该载药纳米颗粒对肿瘤细胞的杀伤作用明显高于正常细胞,在癌症治疗中能显著降低化疗药物对正常组织的毒副作用。PHBV/葡聚糖纳米颗粒有望成为一种新型抗肿瘤药物载体,对更多的疏水性抗肿瘤药物进行有效包载并达到缓释效果,甚至可实施亲疏水性药物间的联合治疗,以提高化疗效率并减轻毒副作用。

参考文献

[1] NICOLAS J, MURA S, BRAMBILLA D, *et al.* Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery[J]. *Cheminform*, 2013,42(3):1147-1235.

[2] FONSECA A, FERREIRA P, CORDEIRO R, *et al.* Drug delivery systems for predictive medicine: polymers as tools for advanced applications[C]//M. S. Mozaffari. *New Strategies to Advance Pre/Diabetes Care: Integrative Approach by PPM*, Volume 3 of the Series *Advances in Predictive, Preventive and Personalised Medicine*, 2013:399-455.

[3] 黄飞云,屠锡德. 难溶性抗肿瘤药物注射剂的制剂研究[J]. *药学进展*,2002,26(2):71-76.

HUANG F Y, TU X D. Advances in injections of insoluble antitumor drugs[J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2002,26(2):71-76. (In Chinese)

[4] ALEXIS F, PRIDGEN E, MOLNAR L K, *et al.* Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2008,5(4):505-515.

[5] DU Y, WENG Q, YUAN H, *et al.* Synthesis and antitumor activity of stearate-g-dextran micelles for intracellular doxorubicin delivery[J]. *Acs Nano*, 2010,4(11):6894-6902.

[6] MATSUMURA Y M, MAEDA H A. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs[J]. *Cancer Research*, 1986,46:6387-6392.

[7] LI M, TANG Z, ZHANG Y, *et al.* LHRH-peptide conjugated dextran nanoparticles for targeted delivery of cisplatin to breast cancer[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2014,2(22):3490-3499.

[8] LIU Y, LI J, REN J, *et al.* Preparation and in vitro pH-responsive drug release of amphiphilic dendritic star-block copolymer complex micelles[J]. *Materials Letters*, 2014,127:8-11.

[9] NIGMATULLIN R, THOMAS P, LUKASIEWICZ B, *et al.* Polyhydroxyalkanoates, a family of natural polymers, and

their applications in drug delivery[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2015,90(7):1209-1221.

[10] VILOS C, MORALES F A, SOLAR P A, *et al.* Paclitaxel-PHBV nanoparticles and their toxicity to endometrial and primary ovarian cancer cells[J]. *Biomaterials*, 2013,34(16):4098-4108.

[11] MASOOD F, CHEN P, YASIN T, *et al.* Encapsulation of Ellipticine in poly-(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) based nanoparticles and its in vitro application[J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2013,33(3):1054-1060.

[12] ZOU P, LIU H, LI Y, *et al.* Surface dextran modified electrospun poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) fibrous scaffold promotes the proliferation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Materials Letters*, 2016,179:109-113.

[13] WANG N, ZHOU Z, XIA L, *et al.* Fabrication and characterization of bioactive β -Ca₂SiO₄/PHBV composite scaffolds. [J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2013,33(4):2294-2301.

[14] LIU P, SITU J Q, LI W S, *et al.* High tolerated paclitaxel nano-formulation delivered by poly (lactic-co-glycolic acid)-g-dextran micelles to efficient cancer therapy[J]. *Nanomedicine Nanotechnology Biology & Medicine*, 2015,11(4):855-866.

[15] 祝兴勇,张文萍,尤启冬,等. 铂(II)类抗肿瘤药物[J]. *化学进展*,2008,20:1324-1340.

ZHU X Y, ZHANG W P, YOU Q D, *et al.* Antitumor platinum(II) drugs[J]. *Progress in Chemistry*, 2008,20:1324-1340. (In Chinese)

[16] ALAM N, KHARE V, DUBEY R, *et al.* Biodegradable polymeric system for cisplatin delivery: Development, in vitro characterization and investigation of toxicity profile[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2014,38(38):85-93.

[17] SAHANA B, SANTRA K, BASU S, *et al.* Development of biodegradable polymer based taxomifen citrate loaded nanoparticles and effect of some manufacturing process parameters on them: a physicochemical and in-vitro evaluation[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2010,5:621-630.

[18] FRANKEN N A, RODERMOND H M, STAP J, *et al.* Clonogenic assay of cells in vitro[J]. *Nature Protocols*, 2006,1(5):2315-2319.

[19] BLUNDEN B M, LU H, STENZEL M H. Enhanced delivery of the RAPT-A-C macromolecular chemotherapeutic by conjugation to degradable polymeric micelles[J]. *Biomacromolecules*, 2013,14(12):4177-4188.

[20] LI J, YU X, WANG Y, *et al.* A reduction and pH dual-sensitive polymeric vector for long-circulating and tumor-targeted siRNA delivery[J]. *Advanced Materials*, 2014,26(48):8217-8224.

[21] CHOW E K, HO D. Cancer nanomedicine: from drug delivery to imaging[J]. *Science Translational Medicine*, 2013,5:216-224.

[22] 马方奎. 基于壳聚糖 PLGA 纳米载体的构建及其水解释药研究[D]. 中国海洋大学,2013:58-69.

MA F K. Chitosan-PLGA nanocarrier systems for hydrolytic erosion and drug release [D]. Ocean University of China, 2013:58-69. (In Chinese)

[23] 霍希琴,霍海玲,伍旭,等. 纳米颗粒-葡萄糖与肿瘤细胞的相互作用[J]. *湖南大学学报(自然科学版)*,2009,36(3):67-70.

HUO X Q, HUO H L, WU X, *et al.* The Interaction between Cancer Cells and Nanoparticles-glucose Bioconjugates (FSINPs-DG)[J]. *Journal of Hunan University(Natural Sciences)*, 2009,36(3):67-70. (In Chinese)