

· 药剂与炮制 ·

槲皮素和白藜芦醇共载磁性固体脂质纳米粒的 制备及其抑瘤作用评价

杜倩*, 汤洋, 陈剑秋, 吕方南, 任瑾
(徐州医科大学药学院, 江苏徐州 221004)

[摘要] 目的:制备槲皮素和白藜芦醇共载磁性固体脂质纳米粒(QR-MSLN),探索合理表征方法并考察其对小鼠肝癌 H22 移植性肿瘤的抑瘤作用。方法:制备油酸表面修饰的磁性 Fe_3O_4 (OA- Fe_3O_4),采用红外光谱分析进行结构确证;采用乳化超声分散法制备 QR-MSLN,分别采用透射电子显微镜、纳米粒径-Zeta 电位测定仪观测其形态与粒径,邻二氮菲分光光度法测定制剂中铁含量,超滤离心法测定 2 种成分的包封率,振动样品磁强计测定其饱和磁化强度,透析法研究其体外释药行为;建立小鼠肝癌细胞(H22)移植瘤模型,评价在外加磁场下 QR-MSLN 对移植瘤的抑制作用。结果:QR-MSLN 形态圆整,内部可见载有黑色磁性微粒,粒径(171.9 ± 2.2) nm,铁质量浓度(1.40 ± 0.46) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,饱和磁化强度 $7.75 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$,具有超顺磁性。槲皮素和白藜芦醇的包封率分别为 99.10%,80.83%。与槲皮素和白藜芦醇原药、载药固体脂质纳米粒相比,QR-MSLN 的肿瘤抑制率显著增高($P < 0.01$)。结论:制得的 QR-MSLN 粒径均匀、磁响应性好,对小鼠 H22 移植瘤具有明显的抑制作用。

[关键词] 磁性固体脂质纳米粒;槲皮素;白藜芦醇;表征;抑瘤作用;体外释药行为;油酸

[中图分类号] R22;R24;R28;C37;TS193 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)10-0109-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190209

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181031.0718.002.html>

[网络出版时间] 2018-11-02 09:01

Preparation of Magnetic Solid Lipid Nanoparticles Co-loaded Quercetin and Resveratrol and Evaluation of Its Antitumor Effect

DU Qian*, TANG Yang, CHEN Jian-qiu, LYU Fang-nan, REN Jin
(School of Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare magnetic solid lipid nanoparticles co-loaded quercetin and resveratrol (QR-MSLN), develop the reasonable characterization method, and investigate its inhibitory effect on transplanted hepatocarcinoma H22 tumor in mice. **Method:** Magnetic Fe_3O_4 particles coated with oleic acid (OA- Fe_3O_4) were synthesized and its structure was confirmed by Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR). QR-MSLN was prepared by emulsion ultrasonic dispersion method, its morphology was examined by transmission electron microscopy, its particle size was determined by laser particle sizer. Concentration of Fe in the preparation was determined by phenanthroline spectrophotometry. The entrapment efficiency, saturation magnetization, *in vitro* release behavior were investigated by ultrafiltration centrifugation, vibrating sample magnetometer (VSM) and dialysis method, respectively. Mouse tumor model transplanted with hepatoma H22 ascites tumor was established and antitumor effect of QR-MSLN on H22 bearing mice were observed in the presence of an applied magnetic field. **Result:** Morphology of QR-MSLN was round, and black magnetic particles could be observed inside it, its particle size was (171.9 ± 2.2) nm, the concentration of Fe was (1.40 ± 0.46) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The preparation

[收稿日期] 20180704(005)

[基金项目] 江苏省自然科学基金项目(BK20150215);国家自然科学基金项目(81603302)

[通信作者] *杜倩,副教授,硕士生导师,从事药物新剂型研究,Tel:0516-83262251,E-mail:duqian@xzhmu.edu.cn

exhibited apparent superparamagnetism and the saturation magnetization was $7.75 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$. The entrapment efficiencies of quercetin and resveratrol in QR-MSLN were 99.10% and 80.83%, respectively. QR-MSLN had a significantly higher effect of tumor inhibition than SLN (containing quercetin and resveratrol) and free drug ($P < 0.01$). **Conclusion:** QR-MSLN has uniform particle size and good magnetic response, and shows remarkable antitumor effect on H22 bearing mice.

[**Key words**] magnetic solid lipid nanoparticles; quercetin; resveratrol; characterization; antitumor effect; *in vitro* release behavior; oleic acid

槲皮素和白藜芦醇均为广泛存在于植物体内的天然药物成分,具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、心血管保护等药理活性^[1-2]。诸多研究证明槲皮素与白藜芦醇合用对多种肿瘤具明显的协同抑制效应,并且可降低化疗药物引起的心脏毒性^[3-5]。然而槲皮素为多羟基黄酮类成分,白藜芦醇为多酚类成分,二者水溶性小、稳定性差且体内代谢迅速^[6],限制了其体内吸收,常规给药途径不利于其药效的发挥。

固体脂质纳米粒(SLN)是采用固态天然或合成的类脂如脂肪酸、脂肪醇、磷脂等作为载体将药物吸附或包裹于脂质膜中或吸附于纳米粒表面制成的固体胶粒给药系统,具生理相容性好、可改善药物溶解性、提高稳定性及靶向性的特点^[7]。本课题组前期制备了载槲皮素固体脂质纳米粒(QSLN),结果QSLN包封率达99.70%,粒径(164.4 ± 3.5) nm, Zeta 电位(-31.1 ± 0.8) mV,多分散指数 0.22 ± 0.01 ,透射电镜观察纳米粒形态圆整、粒径均匀。在此基础上,本实验以具抗肿瘤活性的槲皮素和白藜芦醇为模型药物,并于SLN类脂核内同时包载这2种药物和磁性粒子,制备共载双药的磁性固体脂质纳米粒(QR-MSLN),以期能够通过外加磁场介导进一步增强载体靶向性,提高药物抗肿瘤效果^[8];此外,还考察了该纳米粒的表观形态、粒径、铁含量及磁强度等性质,评价其对H22荷瘤小鼠的抑瘤效果。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), Tecnai 12 型透射电子显微镜(荷兰 Philips 公司), Magna IR-560 型傅立叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司), VSM-7410 型振动样品磁强计(德国 LakeShore 公司), Nicomp 380/ZLS 型纳米粒径-Zeta 电位测定仪(美国 PSS 公司), UV-3100PC 型紫外-可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司), RCT 基本型恒温磁力搅拌器(德国 IKA 公司), MS104S/01 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司), JY92-II N 型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技

有限公司)。

N52 型钕铁硼永久磁铁(0.8 T, 上海精茂磁业有限公司), 槲皮素、白藜芦醇对照品(成都普菲德生物技术有限公司, 批号分别为 150929 和 160317, 纯度 $\geq 98\%$), 大豆卵磷脂(上海艾韦特医药科技有限公司, 批号 151004), 胆酸钠[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司, 批号 CDPKE-IO], 泊洛沙姆 188(德国巴斯夫集团, 批号 WPWH638C), 单硬脂酸甘油酯、油酸(OA)[萨恩化学技术(上海)有限公司, 批号分别为 CE050024, CJ150104], 十六烷酸(上海阿拉丁化工有限公司, 批号 G1517199), 氯化铁、四水合氯化亚铁、盐酸羟胺、邻菲罗啉(国药集团化学试剂有限公司, 批号分别为 20130714, 20130104, 20131015, 20080901), 硫酸铁铵(上海化学试剂有限公司, 批号 XK2010279-133 II), 透析袋(截留相对分子质量 3.5 kD, 上海源叶生物科技有限公司), 超滤管(截留相对分子质量 30 kD, 美国密理博公司), 小鼠 H22 肝癌细胞株(中国科学院上海细胞库, 由徐州医科大学药物制剂实验室传代培养获得), 水为超纯水, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

清洁级 KM 小鼠, 雄性, 由徐州医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SYXK(苏)2015-0009, 本文涉及的动物实验经徐州医科大学动物实验伦理委员会批准, 批准号 XZMU-20170912。

2 方法与结果

2.1 OA 表面修饰磁性四氧化三铁(Fe_3O_4)的制备及验证

2.1.1 Fe_3O_4 和 OA 表面修饰磁性 Fe_3O_4 (OA- Fe_3O_4)的制备

采用共沉淀法制备 Fe_3O_4 ^[9-10]。精密称取四水合氯化亚铁 0.4 g 和氯化铁 0.56 g, 加水 100 mL 溶解后转移至 250 mL 三颈烧瓶中, 在体系温度 $55 \text{ }^\circ\text{C}$, $1\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 机械搅拌和氮气保护下, 缓慢滴加 25% 氨水溶液至 pH 12, 继续搅拌反应 30 min, 停止搅拌后冷却至室温, 磁铁吸附后分离, 用水和无水乙醇反复洗涤至中性, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 真空干燥,

得 Fe_3O_4 粒子。OA- Fe_3O_4 的制备按上述操作自“继续搅拌反应 30 min”起,逐滴加入 OA 10 mL,搅拌反应 30 min,冷却,磁铁吸附后分离,加水 and 无水乙醇反复洗涤,50 °C 真空干燥,得黑色磁性粒子,保存备用。

2.1.2 傅里叶红外光谱仪 (FT-IR) 分析 采用 KCl 压片,见图 1。结果发现 568 cm^{-1} 由 Fe—O 伸缩振动引起,为 Fe_3O_4 的特征吸收峰;在 OA- Fe_3O_4 的红外图谱中, $2\ 925\text{ cm}^{-1}$ 为油酸的 C—H 键伸缩振动峰, $1\ 702\text{ cm}^{-1}$ 处 OA 的羰基特征吸收峰消失,表明 OA- Fe_3O_4 已生成。

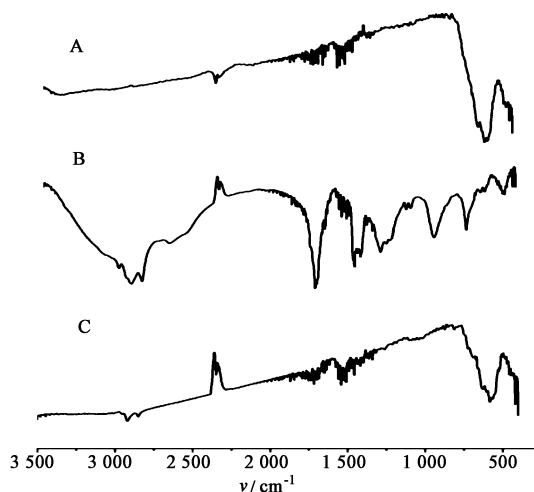


图 1 Fe_3O_4 (A), OA (B) 和 OA- Fe_3O_4 (C) 的 FT-IR
Fig. 1 FT-IR spectra of Fe_3O_4 (A), OA (B) and OA- Fe_3O_4 (C)

2.2 槲皮素和白藜芦醇共载磁性固体脂质纳米粒 (QR-MSLN) 的制备 称取单硬脂酸甘油酯 90 mg, 软脂酸 10 mg 和大豆卵磷脂 100 mg, 加入适量无水乙醇-丙酮 (1:1) 混合溶剂, 60 °C 水浴溶解, 与处方量槲皮素与白藜芦醇 (2 种药物摩尔比 1:1), OA- Fe_3O_4 充分混合作为油相^[11]; 取处方量胆酸钠和泊洛沙姆 188, 加水 10 mL 使溶解, 作为水相。在 60 °C 恒温水浴及电动搅拌 ($1\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 下, 将油相缓缓滴加到水相中, 搅拌 30 min, 转移至超声波细胞粉碎机 (超声 3 s, 间歇 2 s, 功率 250 W) 处理 6 min, 即得 QR-MSLN。载槲皮素和白藜芦醇固体脂质纳米粒 (QR-SLN) 的制备方法除不加 OA- Fe_3O_4 外, 其他操作同 QR-MSLN。

2.3 外观观测 加水稀释 QR-MSLN, 观察其颜色变化, 结果发现加水稀释后的颜色变淡, 并呈现乳光, 但未见沉淀, 见图 2。并将钕铁硼磁铁贴近试管外壁, 出现磁粒子在磁铁一侧迅速聚集的现象, 见图 3。

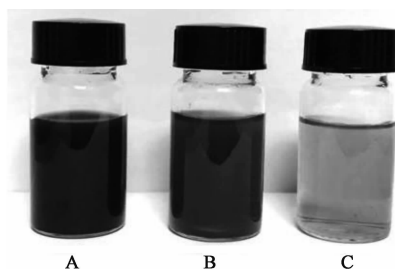
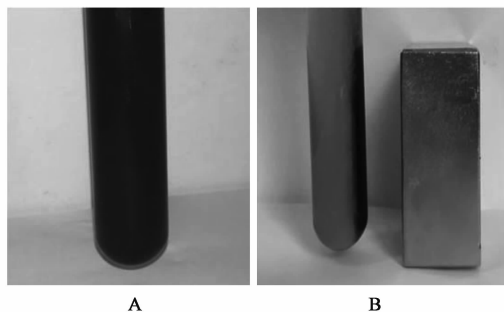


图 2 QR-MSLN 未稀释 (A) 和稀释 5 倍 (B), 25 倍 (C) 的外观
Fig. 2 Appearance of undiluted solution (A), 5-fold (B) and 25-fold (C) diluted solution of QR-MSLN



A. 无磁铁; B. 有磁铁
图 3 QR-MSLN 的磁响应分析
Fig. 3 Magnetic response analysis of QR-MSLN

2.4 形态及粒径 采用纳米粒径-Zeta 电位测定仪测得 QR-MSLN 的粒径 (171.9 ± 2.2) nm, 多分散指数 (PDI) 0.16 ± 0.06 。取适量 Fe_3O_4 , OA- Fe_3O_4 和 QR-MSLN 溶液滴加到覆盖有碳膜的铜网上, 晾干处理后, 透射电子显微镜 (TEM) 下进行形态观察, 见图 4。结果显示 Fe_3O_4 经 OA 修饰后粒径增加, QR-MSLN 粒径和动态激光光散射法 (DLS) 测定结果基本一致, 且可见纳米粒内包载有 OA- Fe_3O_4 (黑色粒子)。

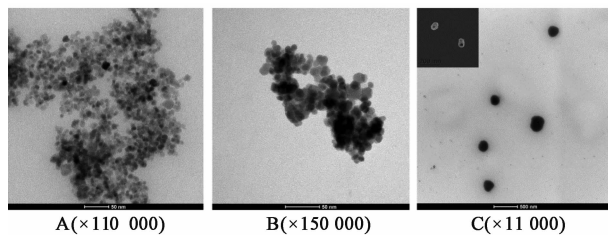


图 4 Fe_3O_4 (A), OA- Fe_3O_4 (B) 和 QR-MSLN (C) 的 TEM
Fig. 4 TEM of Fe_3O_4 (A), OA- Fe_3O_4 (B) and QR-MSLN (C)

2.5 铁含量的测定

2.5.1 铁对照品溶液的制备 取硫酸铁铵 863.1 mg, 置于 1 L 量瓶中, 加水使溶解, 加入硫酸 2.5 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 得铁质量浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液。精密吸取该储备液 10 mL 于

100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁对照品溶液。

2.5.2 标准曲线的制备 精密移取 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中,加入 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 0.5 mL, 10% 盐酸羟胺溶液 0.5 mL, pH 4.5 乙酸-乙酸钠缓冲溶液 2.5 mL, 0.1% 邻菲罗啉溶液 1.5 mL, 摇匀, 加水稀释至刻度。静置 10 min, 以空白试剂为参比溶液, 照紫外-可见分光光度法于 510 nm 处测定吸光度 A , 以铁质量浓度为纵坐标, A 为横坐标, 得标准曲线为 $Y = 4.15A + 0.18$ ($r = 0.9979$), 线性范围 $0.4 \sim 2.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5.3 样品测定 精密吸取 QR-MSLN 溶液 1 mL 至 25 mL 量瓶中,按 2.5.2 项下自“加入 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 0.5 mL”起开始操作,得样品溶液,以空白试剂为参比溶液,于 510 nm 处测定 A ($n = 3$), 计算 QR-MSLN 中铁质量浓度 (1.40 ± 0.46) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6 槲皮素及白藜芦醇含量测定方法的建立

2.6.1 色谱条件 Wondasil C_{18} -WR 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$), 流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液 (40 : 60), 检测波长 360 nm (槲皮素) 和 306 nm (白藜芦醇), 柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$, 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

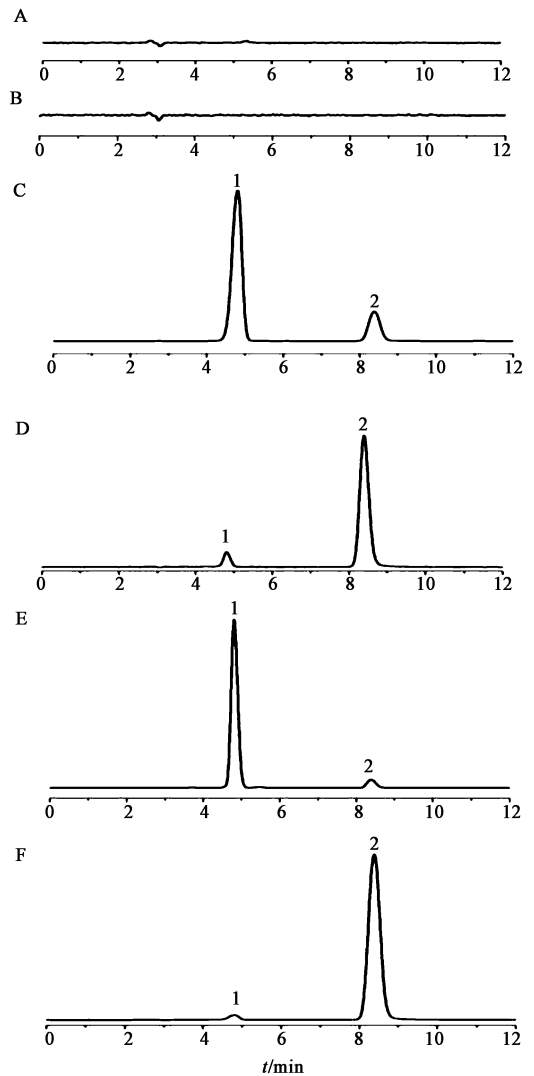
2.6.2 对照品溶液的制备 分别精密称取槲皮素及白藜芦醇对照品 2.07, 1.58 mg, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得质量浓度分别为 $0.414, 0.316 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.6.3 供试品溶液的制备 精密移取 QR-MSLN 溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加入适量甲醇超声破乳, 加甲醇定容, 经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 即得。

2.6.4 阴性样品溶液的制备 按 2.2 项下方法制备不含药物的空白 MSLN 溶液, 按 2.6.3 项下方法制备阴性样品溶液。

2.6.5 专属性试验 取混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 $20 \mu\text{L}$, 按 2.6.1 项下色谱条件进样分析, 见图 5。结果供试品溶液的色谱图中, 在与槲皮素和白藜芦醇对照品色谱峰相同保留时间处有色谱峰; 而在阴性样品溶液色谱图中, 与槲皮素和白藜芦醇对照品色谱峰对应位置上则无干扰峰。

2.6.6 线性范围考察 分别精密吸取 2.6.2 项下混合对照品溶液适量, 分别加甲醇稀释成 6 个系列质量浓度的混合对照品溶液, 按 2.6.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为纵坐标, 峰面积为横坐标, 得槲皮素、白藜芦醇线性回归方程分别为 $Y = 1.78 \times 10^{-5} X + 0.060$ ($r = 0.9999$), $Y = 8.04 \times 10^{-6} X +$



A. 阴性样品 (306 nm); B. 阴性样品 (360 nm); C. 对照品 (306 nm); D. 对照品 (360 nm); E. 供试品 (306 nm); F. 供试品 (360 nm); 1. 白藜芦醇; 2. 槲皮素

图 5 QR-MSLN 在不同波长处的 HPLC 色谱
Fig. 5 HPLC chromatograms of QR-MSLN at different detection wavelengths

0.158 ($r = 0.9999$), 线性范围依次为 $0.207 \sim 41.4, 0.158 \sim 31.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6.7 精密度试验 精密移取同一混合对照品溶液适量, 加甲醇稀释成高、中、低 3 个质量浓度 (槲皮素质量浓度分别为 $20.7, 2.07, 0.207 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 白藜芦醇质量浓度分别为 $15.8, 1.58, 0.158 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 按 2.6.1 项下色谱条件测定, 每一质量浓度连续进样 6 次, 连续测定 3 d, 计算槲皮素和白藜芦醇的日内、日间精密度的 RSD 均 $< 2.0\%$ 。

2.6.8 回收率试验 取一定量空白 MSLN 溶液, 置 10 mL 量瓶中, 分别精密加入 2.6.7 项下高、中、低质量浓度的混合对照品溶液, 加入甲醇超声破乳并

稀释至刻度,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.6.1 项下色谱条件测定,计算回收率,每组平行 3 次。结果槲皮素的回收率平均值分别为 102.53%,97.04% 和 101.15%,RSD 分别为 2.6%,1.8% 和 1.9%;白藜芦醇的回收率平均值分别为 102.41%,103.65% 和 100.79%,RSD 分别为 1.5%,1.9% 和 1.1%。

2.6.9 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于配制后 0,2,4,8,12,24 h 按 2.6.1 项下色谱条件测定,结果槲皮素和白藜芦醇峰面积的 RSD 分别为 1.7% 和 0.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 包封率测定 取 QR-MSLN 溶液 1.0 mL 置于超滤离心管中,6 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min,取下层滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.6.1 项下色谱条件测定,计算药物含量,记为 $W_{\text{游}}$;另取 QR-MSLN 溶液适量,加甲醇超声破乳,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.6.1 项下色谱条件测定,计算药物含量,记为 $W_{\text{总}}$ 。按包封率 = $(W_{\text{总}} - W_{\text{游}}) / W_{\text{总}} \times 100\%$,结果槲皮素和白藜芦醇的包封率分别为 99.10% 和 80.83%。

2.8 磁强度测定 采用振动样品磁强计测定 Fe_3O_4 ,OA- Fe_3O_4 ,QR-MSLN 的磁强度,结果显示三者均具有顺磁性特征,饱和磁化强度分别为 73.81,80.47,7.75 $\text{A}\cdot\text{m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.9 体外释放性能考察^[12-14] 采用透析法考察药物的体外释放行为。为满足漏槽条件,选择 35% 乙醇为释放介质。精密量取 QR-MSLN 溶液,QR-SLN 溶液各 1 mL 放入透析袋,放入含释放介质 60 mL 的烧杯内,并置于恒温振荡器中(37 $^{\circ}\text{C}$,100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)。分别于 0.25,0.5,1,1.5,2,4,8,12 h 取样 1 mL,并立即补充等温等量释放介质。取出液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.6.1 项下色谱条件测定,计算槲皮素和白藜芦醇含量,绘制体外释放曲线,见图 6。结果与 QR-SLN 比较,QR-MSLN 中槲皮素在各时间点的释放率均明显增加,而白藜芦醇在 6 h 前释放速率基本相同,之后逐渐升高且 12 h 的累积释放率 >80%。

2.10 抑瘤作用考察 小鼠右后肢皮下无菌接种小鼠肝癌 H22 腹水瘤瘤株,接种 1 d 后,按随机数表法分为 4 组,分别为模型组,槲皮素和白藜芦醇混合原药(QR 原药)组,QR-SLN 组及 QR-MSLN 组,培养 7 d 后选择肿瘤体积约为 1 mm^3 的荷瘤小鼠开始给药,共计 20 只小鼠,每组 5 只。各给药组均按槲皮素、白藜芦醇剂量分别为 24,18 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给予 QR 原药,QR-SLN 和 QR-MSLN 溶液,模型组给予等体积

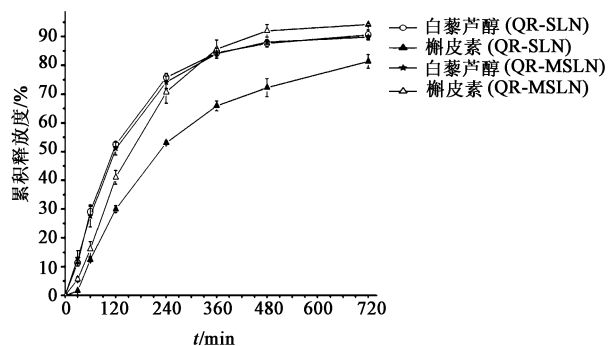


图 6 QR-MSLN 和 QR-SLN 中指标成分的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 6 *In vitro* release curves of quercetin and resveratrol in QR-MSLN and QR-SLN ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

生理盐水,给药体积均为 20 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,尾静脉注射给药,连续给药 7 d,QR-MSLN 给药前用磁铁置于瘤组织表皮处,给药后持续外加磁场 120 min。给药当天及给药 24 h 后,分别用游标卡尺测量小鼠瘤径,观察肿瘤生长状况。结果发现与模型组相比,QR-原药组,QR-SLN 组和 QR-MSLN 组小鼠平均瘤径分别于第 7,3,3 天出现显著性差异 ($P < 0.05$),QR-MSLN 组小鼠平均瘤径较 QR-SLN 组于第 7 天有显著性差异 ($P < 0.05$)。各组末次给药 24 h 后,处死小鼠,剥离瘤体称重,并按公式抑瘤率 = $(\text{模型组的平均瘤重} - \text{给药组的平均瘤重}) / \text{模型组的平均瘤重} \times 100\%$ 计算抑瘤率,见表 1。结果表明与模型组比较,各给药组瘤重差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 QR 原药组和 QR-SLN 组比较,QR-MSLN 组瘤重差异均具统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 1 各组小鼠瘤重及抑瘤率比较 ($n = 5$)

Table 1 Comparison of tumor weight and tumor inhibitory rate in each group ($n = 5$)

组别	瘤重 ($\bar{x} \pm s$)/g	抑瘤率/%
模型	1.49 \pm 0.23	-
QR 原药	1.11 \pm 0.27 ¹⁾	25.50
QR-SLN	0.77 \pm 0.07 ^{2,3)}	48.32
QR-MSLN	0.42 \pm 0.28 ^{2,4,5)}	71.81

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与 QR 原药组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与 QR-SLN 组比较⁵⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

固体脂质纳米粒中脂质的种类和用量是影响处方质量的关键因素,本课题组以粒径、电位、稳定性为指标,对山嵛酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、三硬脂酸甘油酯、硬脂酸、软脂酸等材料进行了对比,结果

优选了单硬脂酸甘油酯和软脂酸,在此条件下制备的 SLN 及 MSLN 性质稳定、包封率高、形态圆整,原因可能为混合脂质的加入可以使固体脂质纳米粒的排列晶格混乱,从而提高稳定性和载药能力。磁性固体脂质纳米粒处方中 Fe_3O_4 的投入量,参照已上市制剂菲立磁(超顺磁氧化铁注射液)的铁剂量,并结合文献[15],本实验设计 QR-MSLN 给予小鼠的铁剂量均为 $14.04 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

多成分药物在肿瘤等疾病领域具有不可替代的治疗作用,将多成分同时包载于纳米载体中,可在保持其药物活性的同时,进一步发挥其协同作用而增强制剂疗效。磁性纳米制剂经由静脉注射到体内后,在外磁场的作用下能够将药物靶向输送到肿瘤部位,并依靠纳米粒中包载的多成分药物实现协同治疗作用。本研究选择混合脂质为载体材料,通过乳化超声分散法制备了能够同时包载 2 种中药成分的磁性固体脂质纳米粒,该制剂包封率高、磁响应性良好,在外加磁场作用下能够显著抑制 H22 移植性肿瘤生长,在肿瘤治疗领域具有一定的应用前景。此外,笔者还考察了在外加磁场作用下纳米粒在荷瘤小鼠体内的组织分布情况,表明 MSLN 中包载的药物能够有效在肿瘤部位蓄积,并延长作用时间;然而磁场强度、磁场作用时间等因素对纳米粒在动物体内分布情况有何影响尚不明确,仍需后续进一步研究。

[参考文献]

[1] XIA N, Daiber A, Förstermann U, et al. Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(12):1633-1646.

[2] Nam J S, Sharma A R, Nguyen L T, et al. Application of bioactive quercetin in oncotherapy: from nutrition to nanomedicine[J]. *Molecules*, 2016, 21(1):E108.

[3] Boydens C, Pauwels B, Vanden Daele L, et al. Resveratrol and quercetin protect isolated mouse corpora cavernosa from *in vitro*-induced diabetic erectile dysfunction [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, doi: 10.1186/s12933-016-0366-9.

[4] Cote B, Carlson L J, RAO D A, et al. Combinatorial resveratrol and quercetin polymeric micelles mitigate doxorubicin induced cardiotoxicity *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2015, 213:128-133.

[5] Arias N, Macarulla M T, Aguirre L, et al. The combination of resveratrol and quercetin enhances the individual effects of these molecules on triacylglycerol metabolism in white adipose tissue [J]. *Eur J Nutr*, 2016, 55(1):341-348.

[6] WANG M, CHEN L, LIU D, et al. Metabolomics highlights pharmacological bioactivity and biochemical mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 273:133-141.

[7] Naseri N, Valizadeh H, Zakeri-Milani P, et al. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: structure, preparation and application [J]. *Adv Pharm Bull*, 2015, 5(3):305-313.

[8] Muñoz de Escalona M, Sáez-Fernández E, Prados J C, et al. Magnetic solid lipid nanoparticles in hyperthermia against colon cancer [J]. *Int J Pharm*, 2016, 504(1/2):11-19.

[9] Gulshan F. Preparation of alumina-iron oxide compounds by coprecipitation and gel evaporation methods and their characterization [J]. *J Eng Res (Kuwait)*, 2015, 3(2):1-8.

[10] 黄苏苏, 谢波, 凌家俊, 等. 二氢卟吩 e6 磁性声敏纳米脂质体的制备及质量评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(8):21-26.

[11] Ribeiro V G P, Barreto A C H, Denardin J C, et al. Magnetic nanoparticles coated with anacardic acid derived from cashew nut shell liquid [J]. *J Mater Sci*, 2013, 48(22):7875-7882.

[12] Benbettaieb N, Chambin O, Karbowski T, et al. Release behavior of quercetin from chitosan-fish gelatin edible films influenced by electron beam irradiation [J]. *Food Control*, 2016, 66:315-319.

[13] Bose S, DU Y, Takhistov P, et al. Formulation optimization and topical delivery of quercetin from solid lipid based nanosystems [J]. *Int J Pharm*, 2013, 441(1/2):56-66.

[14] 吴玉梅, 陈晓兰, 唐红艳, 等. 雪上一枝蒿总生物碱微乳凝胶的制备及质量评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(20):10-13.

[15] 高文慧, 刘世霆, 范彩霞, 等. 叶酸-羧甲基壳聚糖-超小超顺磁氧化铁纳米粒在大、小鼠体内的药代动力学、组织分布及磁共振响应特征 [J]. *药学学报*, 2011, 46(7):845-851.

[责任编辑 刘德文]