

· 论著 ·

载阿霉素金纳米粒的制备和细胞毒性研究

许子艺, 孙雨菡, 樊莉, 卢光照, 张鹰楠, 张翀 (海军军医大学药理学系药剂学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 构建载阿霉素(DOX)的甲氧基聚乙二醇(mPEG)修饰的金纳米粒 AuNPs-mPEG@DOX, 以降低 DOX 的毒副作用。方法 制备 AuNPs-mPEG@DOX, 通过粒径、电位和紫外可见光吸收光谱(UV-Vis)进行表征。考察连接巯基的 DOX(HS-DOX)投药浓度对 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的影响。建立未吸附 HS-DOX 含量测定的高效液相色谱法(HPLC), 对专属性、线性、精密度、稳定性和加样回收率进行考察。采用 CCK-8 法检测 AuNPs-mPEG@DOX 对 MCF-10A 和 MCF-7 细胞的毒性作用。结果 成功制备了 AuNPs-mPEG@DOX, 粒径为 (46.12 ± 0.49) nm, 电位为 (18.60 ± 1.51) mV, 最大吸收波长为 530 nm。建立了可用于检测 AuNPs-mPEG@DOX 未吸附 HS-DOX 含量的 HPLC 方法, 测定最佳投药浓度 11.18 μ g/ml, HS-DOX 条件下的吸附率为 $(9.21 \pm 2.88)\%$, 载药量为 $(2.01 \pm 0.62)\%$ 。细胞毒性实验表明 AuNPs-mPEG@DOX 可明显降低 DOX 对正常乳腺细胞的毒副作用; DOX 在 ≥ 4.75 μ mol/L 时, AuNPs-mPEG@DOX 与游离 DOX 对乳腺肿瘤细胞的细胞毒性作用一致。结论 AuNPs-mPEG@DOX 可有效降低 DOX 的毒副作用, 为后续 AuNPs 连接药物降低其毒副作用的研究提供参考。

[关键词] 金纳米粒; 阿霉素; 乳腺肿瘤; 毒副作用

[文章编号] 2097-2024(2024)02-0073-05 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202308043

Preparation and cytotoxicity of doxorubicin-containing gold nanoparticles

XU Ziyi, SUN Yuhuan, FAN Li, LU Guangzhao, ZHANG Yingnan, ZHANG He (Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To construct methoxy polyethylene glycol (mPEG) modified gold nanoparticles (AuNPs) loaded with doxorubicin (DOX) AuNPs-mPEG@DOX in order to reduce the toxicity and side effects of DOX. **Methods** AuNPs-mPEG@DOX was prepared and characterized by Z-Average, Zeta potential and UV-Vis spectroscopy. The impact of thiol-linked DOX (HS-DOX) at various dosage concentrations on the drug adsorption rate and drug loading of AuNPs-mPEG@DOX was investigated. Furthermore, a HPLC method was developed to accurately determine the content of unadsorbed HS-DOX in AuNPs-mPEG@DOX. The specificity, linearity, precision, stability and average recovery of this method were thoroughly investigated. The cytotoxic effect of AuNPs-mPEG@DOX on MCF-10A and MCF-7 cells was evaluated using a CCK-8 assay. **Results** AuNPs-mPEG@DOX was successfully prepared with Z-Average of (46.12 ± 0.49) nm, Zeta potential of (18.60 ± 1.51) nm and the maximum absorption wavelength of 530 nm. An efficient HPLC method for the detection of unadsorbed HS-DOX in AuNPs-mPEG@DOX was devised. The optimal dosage concentration of HS-DOX for AuNPs-mPEG@DOX was determined to be 11.18 μ g/ml, resulting in a drug adsorption rate of $(9.21 \pm 2.88)\%$ and a drug loading rate of $(2.01 \pm 0.62)\%$. Cytotoxicity experiments demonstrated that AuNPs-mPEG@DOX significantly reduced the toxic and side effects of DOX on normal breast cells. Additionally, AuNPs-mPEG@DOX and free DOX exhibited comparable cytotoxic effects on breast tumor cells when DOX concentration was equal to or greater than 4.75 μ mol/L. **Conclusion** AuNPs-mPEG@DOX effectively reduce the toxicity of DOX, providing a reference for future research on reducing the toxicity of AuNPs-linked drugs.

[Key words] gold nanoparticles; doxorubicin; breast tumor; toxicity

阿霉素(DOX)是一种蒽环类化疗抗生素, 尽管其能有效治疗多种实体肿瘤和血液恶性肿瘤, 但对肿瘤细胞和正常细胞的无差别攻击导致的毒副作用, 使其临床应用受到限制^[1-3]。特别是剂量依赖性

心脏毒性最为突出, 研究认为氧化应激是诱导心脏毒性的重要机制。其他常见的毒副作用还包括急性恶心呕吐、口腔炎、胃肠道紊乱、脱发、神经障碍和骨髓发育不全等^[4-6]。同时, 多药耐药的出现是 DOX 使用的附加问题^[2]。因此, 需要寻求 DOX 新的剂型结构来降低药物毒副作用带来的风险。

金纳米粒(AuNPs)具有毒副作用小、生物相容

[作者简介] 许子艺, 硕士生, Email: xuziyi5866@163.com

[通信作者] 张翀, 硕士生导师, 研究方向: 纳米递药系统、军用特需药物制剂, Email: wvzh22@126.com

性良好的特性,且其具有粒径大小可调控、表面易修饰、高效的光热转化等优势,常被用于肿瘤的诊断和治疗^[7-8]。AuNPs 表面可修饰连接抗肿瘤药物、靶向肽、荧光物质或功能化基团等,实现精准治疗和实时监测^[9]。常用的修饰配体为巯基(-SH),以形成 Au-S 键的方式连接在 AuNPs 表面,也可利用氨基与 AuNPs 的静电作用构建载体,但有研究表明,巯基比氨基作用更强,不易断裂^[10]。

本研究制备了一种载 DOX 的 mPEG 修饰金纳米粒 AuNPs-mPEG@DOX,验证了该纳米载体在保持对乳腺肿瘤细胞杀伤活性的同时,降低了 DOX 对正常乳腺细胞的毒副作用,为后续 AuNPs 连接 DOX 用于肿瘤治疗提供参考。

1 仪器和材料

1.1 仪器

ZD-85A 型气浴恒温震荡培养箱(上海启前电子科技有限公司);十万分之一电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司);超纯水系统、数显 pH 计(均为德国 Sartorius 公司);HDC-15K 型离心机(上海泰坦科技股份有限公司);Zetasizer nano ZS 型激光粒度分析仪(英国 Malvern 公司);1260 Infinity II 型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);UV1800 型紫外可见分光光度计(中国 TECHCOMP 公司)。

1.2 药品和试剂

金纳米粒(20 nm,南京东纳生物科技公司);HS-mPEG_{5K}(上海芃硕生物科技有限公司);HS-DOX(西安瑞禧生物科技有限公司);乙腈、三乙胺、磷酸,均为色谱纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 细胞

人乳腺细胞(MCF-10A)、人乳腺癌细胞(MCF-7),均由海军军医大学药理学系药剂学教研室提供。

2 方法

2.1 AuNPs-mPEG@DOX 的制备和表征

2.1.1 AuNPs-mPEG 的制备

用纯水溶解 HS-mPEG_{5K} 得到浓度为 1 mg/ml 的 HS-mPEG_{5K} 溶液,向 1 ml AuNPs(50 μg/ml)中加入 5 μl HS-mPEG_{5K} 溶液,4 ℃ 孵育 8 h,孵育结束后于 4 ℃、以 12000 g 离心 10 min,弃去含未反应 HS-mPEG_{5K} 的上清液,纯水重悬。

2.1.2 AuNPs-mPEG@DOX 的制备

用纯水溶解 HS-DOX 得到浓度为 44.7 μg/ml

的 HS-DOX 溶液,取上步 1 ml AuNPs-mPEG 重悬液离心,弃去上清液,用 0.75 ml 纯水重悬后,加入 0.25 ml HS-DOX 溶液,4 ℃ 孵育 8 h,离心弃去含未反应 HS-DOX 的上清液,纯水重悬。

2.1.3 粒径分布和 Zeta 电位

取 1 ml AuNPs、AuNPs-mPEG 和 AuNPs-mPEG@DOX 溶液于马尔文 Zeta 电位样品池,使用激光粒度分析仪测定粒径和 Zeta 电位,每个样品测量 3 次。

2.1.4 UV-Vis

取 1 ml AuNPs、AuNPs-mPEG 和 AuNPs-mPEG@DOX 溶液于石英皿中,扫描波长 400 nm ~ 700 nm,以纯水作为各样品的纯溶剂参比进行光谱分析。

2.2 HS-DOX 投药浓度对 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的影响

向 1 ml 50 μg/ml AuNPs 中加入 5 μl HS-mPEG_{5K} 溶液,4 ℃ 孵育 8 h 后离心去上清,分别用 0.9375、0.875、0.75、0.5 ml 纯水重悬 AuNPs-mPEG,再分别加入 0.0625、0.125、0.25、0.5 ml HS-DOX 溶液,得到投药浓度分别为 2.79、5.59、11.18、22.35 μg/ml 的反应体系,4 ℃ 孵育 8 h,离心取上清液,通过高效液相色谱法(HPLC)对上清液进行定量检测,考察 HS-DOX 投药浓度对 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的影响。具体检测方法见“2.3”项。

2.3 HS-DOX 色谱分析方法的建立

2.3.1 色谱条件

色谱柱:Extend-C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相:水(0.1% 三乙胺,磷酸调节 pH 3.0):乙腈=75:25;流速:1.0 ml/min;进样量:10 μl;柱温:室温;检测波长:254 nm。

2.3.2 溶液的制备

对照品溶液:精密称取 HS-DOX 4.47 mg,加纯水在 100 ml 量瓶中定容,0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,得到浓度为 44.7 μg/ml 的 HS-DOX 对照品溶液。

供试品溶液:1 ml AuNPs-mPEG 离心沉淀用 0.75 ml 纯水重悬,加入 0.25 ml HS-DOX(44.7 μg/ml),4 ℃ 孵育 8 h,离心取上清液,0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

2.3.3 专属性考察

配制以下溶液:A:5.59 μg/ml HS-DOX 对照品溶液;B:1 ml AuNPs-mPEG 离心沉淀用 0.75 ml 纯水重悬,加入 0.25 ml 纯水混合,4 ℃ 孵育 8 h,离心取上清液,0.22 μm 微孔滤膜过滤,为空白基质溶液;C:供试品溶液。

2.3.4 标准曲线绘制

用纯水稀释 HS-DOX 对照品溶液, 制得 HS-DOX 浓度为 1.40、2.79、5.59、11.18、22.35 $\mu\text{g/ml}$ 的标准工作液。以峰面积(A)为纵坐标, 质量浓度($\mu\text{g/ml}$)为横坐标进行线性回归。

2.3.5 精密度考察

分别选取低、中、高 3 个质量浓度 (1.40、5.59、22.35 $\mu\text{g/ml}$) 的 HS-DOX 标准工作液, 1 d 内进样 3 次, 每次每个浓度连续进样 5 次, 计算峰面积的相对标准偏差(RSD), 考察日内精密度; 连续进样 3 d, 每次每个浓度连续进样 5 次, 考察日间精密度。

2.3.6 稳定性考察

取对照品溶液和供试品溶液于室温下储存, 分别于 0、4、8、12、16、24 h 测定 HS-DOX 的含量, 计算 RSD。

2.3.7 加样回收率考察

取 9 份供试品各 1 ml, 分别加入 1 ml 的含 8.12、10.15、12.18 μg 的 HS-DOX 对照品溶液混合, 每组平行制备 3 份, 得到 80%、100%、120% 加样量的加样供试品溶液。根据以下公式计算 HS-DOX 的加样回收率。

$$\text{加样回收率} = \frac{m_{\text{测得量}} - m_{\text{原有量}}}{m_{\text{加入量}}} \times 100\%$$

2.3.8 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的测定

测定离心后的上清液, 根据以下公式计算吸附率和载药量。

$$\text{吸附率} = \frac{m_{\text{投药}} - m_{\text{上清}}}{m_{\text{投药}}} \times 100\%;$$
$$\text{载药量} = \frac{m_{\text{吸附}}}{m_{\text{吸附}} + m_{\text{金纳米粒}}} \times 100\%$$

2.4 细胞毒性研究

分别取 MCF-10A 和 MCF-7 细胞, 用 DMEM 混合培养基调整细胞密度为 5×10^4 cells/ml, 以每孔 0.1 ml 的体积铺板于 96 孔板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 24 h。分别用相同摩尔浓度的 AuNPs-mPEG@-DOX 和游离 DOX (0.02、0.06、0.18、0.53、1.58、4.75、14.25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 24 h 和 48 h, 每种药物浓度重复 3 个孔。用 10% 的 CCK8 溶液染色 30 min。

2.5 统计学分析

实验结果用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 GraphPad Prism v9 (San Diego, USA) 软件进行统计分析。两组间比较采用 Two-Way ANOVA, $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 AuNPs-mPEG@DOX 的表征

3.1.1 AuNPs-mPEG@DOX 的粒径分布和 Zeta 电位

AuNPs、AuNPs-mPEG 和 AuNPs-mPEG@DOX 的粒径分布和 Zeta 电位如表 1 所示, 3 种纳米颗粒的粒径逐渐增大, Zeta 电位由负电荷转为正电荷, 最终得到水动力直径为 (46.12 ± 0.49) nm, 电位为 (18.60 ± 1.51) mV 的 AuNPs-mPEG@DOX。AuNPs 与 HS-mPEG_{5K} 孵育后, 部分柠檬酸根被甲氧基聚乙二醇取代, 连接了 PEG 长链的 AuNPs-mPEG 更稳定不易聚集, 粒径增大, 负电荷减少; 连接 HS-DOX 后, 由于阿霉素含有氨基带正电, 因而制备得到带正电荷的纳米颗粒。

表 1 AuNPs、AuNPs-mPEG 和 AuNPs-mPEG@DOX 的平均粒径和 Zeta 电位 ($n=3$)

纳米颗粒	平均粒径(nm)	多分散系数	Zeta电位(mV)
AuNPs	28.31 ± 0.37	0.38 ± 0.02	-25.30 ± 0.99
AuNPs-mPEG	43.32 ± 1.40	0.38 ± 0.07	-22.20 ± 0.49
AuNPs-mPEG@DOX	46.12 ± 0.49	0.38 ± 0.04	18.60 ± 1.51

3.1.2 AuNPs-mPEG@DOX 的 UV-Vis 表征

如图 1 所示, AuNPs、AuNPs-mPEG 和 AuNPs-mPEG@DOX 的最大吸收波长分别为 524、526、530 nm, 随着 HS-mPEG_{5K} 和 HS-DOX 被修饰到 AuNPs 上, 最大吸收波长依次出现红移, 表明 mPEG_{5K} 和 DOX 通过 HS 键成功连接在 AuNPs 上。

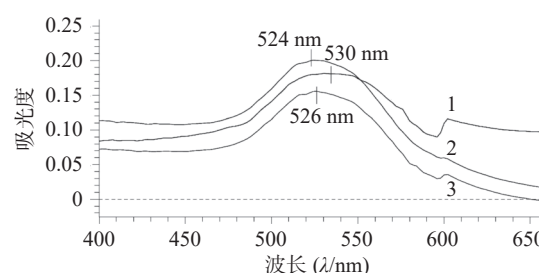


图 1 AuNPs、AuNPs-mPEG 和 AuNPs-mPEG@DOX 的 UV-Vis 光谱图

注: 1. AuNPs-mPEG@DOX; 2. AuNPs; 3. AuNPs-mPEG。

3.2 HS-DOX 投药浓度对 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的影响

为提高纳米载体的吸附率和载药量, 考察了 HS-DOX 投药浓度对 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的影响。如表 2 所示, 随着 HS-DOX 的投药浓度增加, 载体的吸附率和载药量都逐渐升高, 当投药浓度为 11.18 $\mu\text{g/ml}$ 时, 纳米载体的吸附率和载药量达到最大值, 继续提高 HS-DOX 的投药浓度, 载药量不再上升, 吸附率降低。表明 HS-

DOX 投药浓度在 11.18 μg/ml 时, AuNPs 表面吸附可能达到饱和, 因而选择 11.18 μg/ml 投药浓度用于制备 AuNPs-mPEG@DOX。

表 2 HS-DOX 投药浓度对 AuNPs-mPEG@DOX 吸附率和载药量的影响 (n=3)

HS-DOX投药浓度 (μg/ml)	吸附浓度 (μg/ml)	吸附率 (%)	载药量 (%)
2.79	0.11±0.02	3.96±0.57	0.22±0.03
5.59	0.51±0.16	9.20±2.89	1.02±0.32
11.18	1.03±0.32	9.21±2.88	2.01±0.62
22.35	0.92±0.02	4.13±0.09	1.81±0.04

3.3 HS-DOX 色谱分析方法的建立

首先考察方法专属性, 实验表明, 制备过程未对 HS-DOX 的测定产生影响(图 2)。进一步考察 HS-DOX 的线性, 得线性回归方程为 $y=17.884x-5.3651$, $r=0.9999$, 证明该液相色谱方法在 1.40 ~ 22.35 μg/ml 浓度范围内线性良好。分别考察了 1.40、5.59、22.35 μg/ml 3 个低、中、高浓度的精密度, 见表 3, 日内精密度和日间精密度均 <2.0%, 符合精密度要求。对照品溶液和供试品溶液在 24 h 内基本稳定, 其 RSD 分别为 0.78% 和 1.01%。HS-DOX 平均加样回收率为 99.06%, RSD 为 0.83%, 回收率符合要求(表 4)。结果表明, 该液相方法准确可靠, 可用于 HS-DOX 的定量检测。

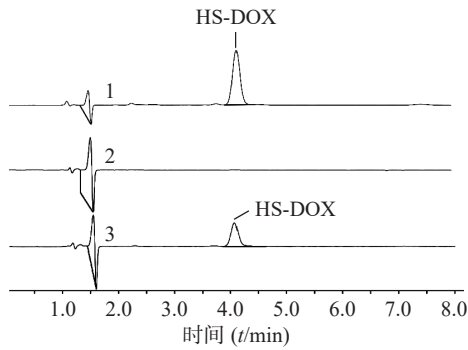


图 2 HS-DOX 的液相色谱图

注: 1.对照品; 2.空白基质; 3.供试品。

表 3 HS-DOX 3 种浓度的日内和日间精密度 (n=5)

浓度 (μg/ml)	日内精密度		日间精密度	
	$\bar{x}\pm s$	RSD(%)	$\bar{x}\pm s$	RSD(%)
1.40	1.41±0.02	1.70	1.41±0.03	1.79
5.59	5.52±0.08	1.40	5.55±0.10	1.83
22.35	22.37±0.19	0.84	22.36±0.17	0.77

3.4 细胞毒性研究

AuNPs-mPEG@DOX 和 DOX 对 MCF-10A 和 MCF-7 细胞的 24 h 和 48 h 毒性作用如图 3 所示,

表 4 HS-DOX 的加样回收率 (n=3)

加入量(m/μg)	测得量(m/μg)	原有量(m/μg)	回收率(%)
8.12	18.13	10.03	99.75
	18.11	10.10	98.65
	17.97	9.98	98.40
10.15	20.42	10.21	100.59
	20.33	10.30	98.82
	20.00	10.02	98.33
12.18	21.95	9.95	98.52
	22.18	10.20	98.36
	22.19	9.99	100.16
平均回收率(%)			99.06
RSD(%)			0.83

随着 DOX 浓度的增加以及药物作用时间延长, MCF-10A 和 MCF-7 细胞的存活率皆降低。在相同 DOX 浓度下, AuNPs-mPEG@DOX 比游离 DOX 对正常乳腺细胞 MCF-10A 的毒性作用明显降低, 可起到减小 DOX 毒副作用的目的。当 DOX 浓度 <4.75 μmol/L 作用于乳腺癌细胞 MCF-7 时, 游离 DOX 表现出比 AuNPs-mPEG@DOX 明显的细胞毒性作用; 在 DOX 浓度 ≥4.75 μmol/L 的情况下, AuNPs-mPEG@DOX 与游离 DOX 表现出无差异的细胞毒性作用。结果表明将 DOX 修饰于 AuNPs 上, 由于 Au-S 键稳定存在, 以及 PEG 的长链保护作用, DOX 与细胞的直接接触面积减小, 可降低对正常细胞的毒副作用。由于肿瘤细胞的高间质液压力, 尺寸较大的 AuNPs-mPEG@DOX 较游离 DOX 不易被泵回血液和细胞胞吐, 在高浓度时, 与 DOX 肿瘤细胞杀伤作用相当。

4 讨论

DOX 在杀伤肿瘤细胞的同时也会损害机体的正常细胞, 其随剂量增加会对心脏、大脑、肝脏和肾脏等器官产生不良反应。同时, 它还会损害免疫系统, 增加病人对病原体的易感性, 削弱他们的愈合能力。本文制备了载 DOX 的 mPEG 修饰金纳米粒 AuNPs-mPEG@DOX, 粒径为 (46.12±0.49) nm, 电位为 (18.60±1.51) mV, 最大吸收波长为 530 nm。成功建立了可用于检测 AuNPs-mPEG@DOX 未吸附 HS-DOX 含量的 HPLC 方法, 在 HS-DOX 投药浓度为 11.18 μg/ml 时有最大吸附率和载药量。该纳米载体能明显降低 DOX 对正常乳腺细胞的毒副作用, 且当浓度达到一定值时, 具有与游离 DOX 相同的肿瘤细胞杀伤作用, 为后续开发 AuNPs 连接

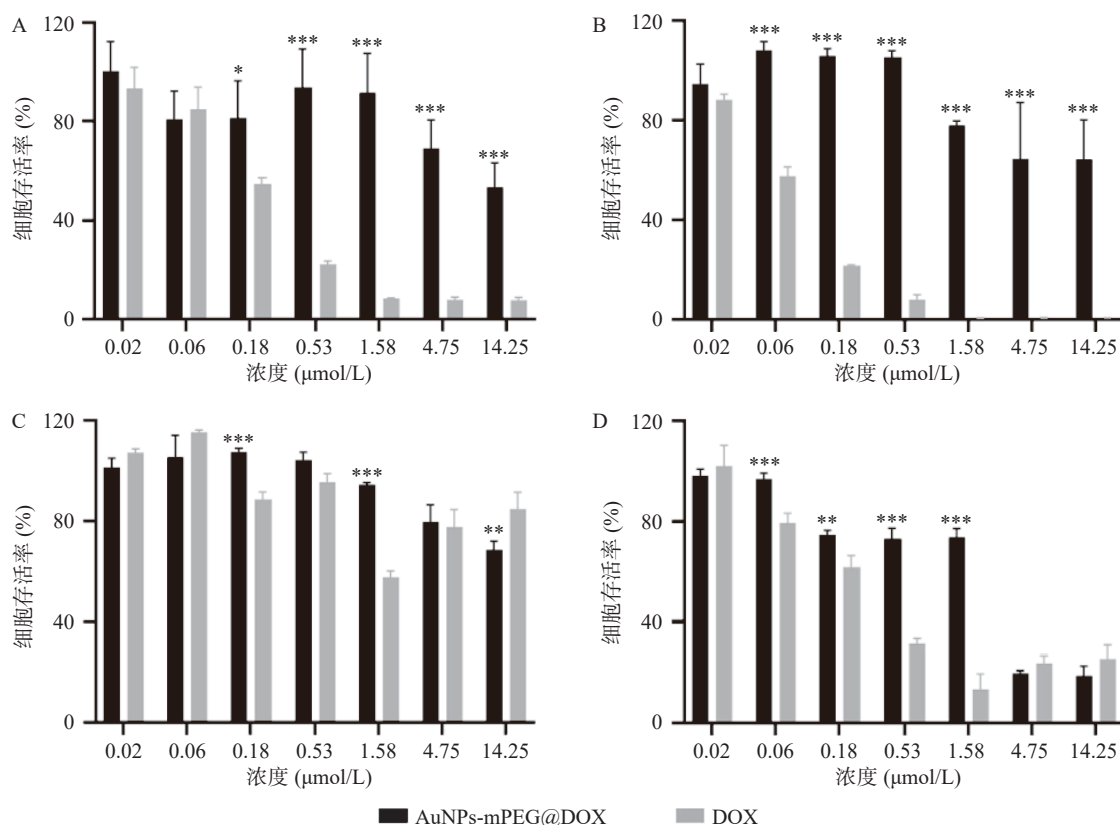


图3 AuNPs-mPEG@DOX 和游离 DOX 分别对 MCF-10A 和 MCF-7 细胞的 24 h 和 48 h 细胞毒性
A.MCF-10A 的 24 h 细胞毒性; B.MCF-10A 的 48 h 细胞毒性; C.MCF-7 的 24 h 细胞毒性; D.MCF-7 的 48 h 细胞毒性
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 DOX 组比较。

DOX 的肿瘤治疗方案奠定了良好的基础。

纳米颗粒被认为是选择性增加肿瘤细胞内药物积累从而减少毒副作用的重要途径。AuNPs 作为无机纳米颗粒的一种,因其独特性质被广泛应用于药物递送、肿瘤诊断和治疗领域。除 AuNPs 本身结构可降低 DOX 毒副作用,也可通过在 AuNPs 表面修饰核酸适配体^[11-12]、肿瘤穿透肽^[13] 等有效靶向和进入肿瘤细胞,减少 DOX 对正常细胞的损害;或利用肿瘤部位的特殊环境,通过响应型功能键将 DOX 连接于 AuNPs 上,如低 pH^[14]、过表达酶^[15] 和高水平的 GSH^[16] 等来调控载体尺寸大小和 DOX 释放,提高载药纳米颗粒在肿瘤部位蓄积量,继而提高抗肿瘤作用。此外,也可以通过将 DOX 和 Varlitinib 与 PEGAuNPs 结合^[17],来增强 DOX 对肿瘤细胞的抑制作用,降低对正常细胞的毒性。虽然利用 AuNPs 载 DOX 同时降低其毒性的策略目前已被广泛研究,但其粒径大小、表面电荷和各类形状等因素对生物分布和细胞摄取的影响, AuNPs 表面有限吸附能力带来的载体量过大,以及进入细胞后的代谢途径等问题还需要进行更多的探索。

【参考文献】

- [1] FAID A H, SHOUMAN S A, BADR Y A, et al. Enhanced cytotoxic effect of doxorubicin conjugated gold nanoparticles on breast cancer model[J]. *BMC Chem*, 2022, 16(1): 90.
- [2] SHAFEI A, EL-BAKLY W, SOBHY A, et al. A review on the efficacy and toxicity of different doxorubicin nanoparticles for targeted therapy in metastatic breast cancer[J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2017, 95: 1209-1218.
- [3] YANG S, SHIM M K, KIM W J, et al. Cancer-activated doxorubicin prodrug nanoparticles induce preferential immune response with minimal doxorubicin-related toxicity[J]. *Biomaterials*, 2021, 272: 120791.
- [4] CARVALHO C, SANTOS R X, CARDOSO S, et al. Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(25): 3267-3285.
- [5] MEREDITH A M, DASS C R. Increasing role of the cancer chemotherapeutic doxorubicin in cellular metabolism[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2016, 68(6): 729-741.
- [6] PUGAZHENDHI A, EDISON T N J I, VELMURUGAN B K, et al. Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems[J]. *Life Sci*, 2018, 200: 26-30.
- [7] LUAN S Y, XIE R, YANG Y S, et al. Acid-responsive aggregated gold nanoparticles for radiosensitization and synergistic chemoradiotherapy in the treatment of esophageal cancer[J]. *Small*, 2022, 18(19): e2200115.

(下转第 81 页)

- 方酮康唑软膏中三组分的含量[J]. 药学实践杂志, 2021, 39(2): 152-156.
- [7] 徐阳, 单柏宇, 徐伟男, 等. HPLC-DAD 法同时测定宁泌泰胶囊中 5 个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 1042-1047.
- [8] 李柯, 杨蕾, 孟令嘉, 等. RP-HPLC 法同时测定五味清浊散中 3 种成分的含量[J]. 实用药物与临床, 2020, 23(8): 744-747.
- [9] 王也, 裘国丽, 黄华. 高效液相色谱法测定丁桂儿脐贴中丁香酚和桂皮醛含量[J]. 中国药业, 2011, 20(10): 43-44.
- [10] 刘光斌, 毛和平, 姜芳宁, 等. HPLC 法测定和胃散中桂皮醛的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 67-68.
- [11] 冯有龙, 房方, 尚姝, 等. HPLC 法测定泽桂癯爽胶囊中桂皮醛含量[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(1): 55-57.
- [12] 石燕飞. HPLC 法测定纯阳正气胶囊中橙皮苷和桂皮醛的含量[J]. 解放军药学报, 2014, 30(5): 412-415.
- [收稿日期] 2022-01-17 [修回日期] 2022-06-21
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 77 页)

- [8] 李廷廷, 张娜. 纳米金的表面修饰及其在抗肿瘤中的应用[J]. 药物生物技术, 2015, 22(2): 160-164.
- [9] KIM H S, YOON S, SON Y J, et al. High-yield clicking and dissociation of doxorubicin nanoclusters exhibiting differential cellular uptakes and imaging[J]. *J Control Release*, 2015, 217: 64-73.
- [10] 胡瑞省, 刘善堂, 朱涛, 等. 金纳米粒子通过形成 Au-S 键的组装[J]. 物理化学学报, 1999, 15(11): 961-965.
- [11] RUAN S B, YUAN M Q, ZHANG L, et al. Tumor microenvironment sensitive doxorubicin delivery and release to glioma using angiopep-2 decorated gold nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2015, 37: 425-435.
- [12] SUN G Y, DU Y C, CUI Y X, et al. Terminal deoxynucleotidyl transferase-catalyzed preparation of pH-responsive DNA nanocarriers for tumor-targeted drug delivery and therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(16): 14684-14692.
- [13] CUN X L, CHEN J T, RUAN S B, et al. A novel strategy through combining iRGD peptide with tumor-microenvironment-responsive and multistage nanoparticles for deep tumor penetration[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(49): 27458-27466.
- [14] SUARASAN S, CRACIUN A M, LICARETE E, et al. Intracellular dynamic disentangling of doxorubicin release from luminescent nanogold carriers by fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) under two-photon excitation[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(8): 7812-7822.
- [15] ZHANG Z M, GAO P C, WANG Z F, et al. DNA-caged gold nanoparticles for controlled release of doxorubicin triggered by a DNA enzyme and pH[J]. *Chem Commun*, 2015, 51(65): 12996-12999.
- [16] HE H, MENG S, LI H M, et al. Nanoplatfrom based on GSH-responsive mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy and mitochondrial targeted imaging[J]. *Mikrochim Acta*, 2021, 188(5): 154.
- [17] COELHO S C, REIS D P, PEREIRA M C, et al. Doxorubicin and varlitinib delivery by functionalized gold nanoparticles against human pancreatic adenocarcinoma[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(11): 551.
- [收稿日期] 2023-08-21 [修回日期] 2023-10-19
[本文编辑] 陈盛新