

纳米金-表阿霉素复合体的体外抗肿瘤作用

赵晓旭¹, 潘运龙^{1*}, 胡杨志¹, 覃莉², 丁晖¹, 巫青¹

(1.暨南大学附属第一医院普外科,广东广州 510630;2.暨南大学医学院组织胚胎学教研室,广东广州 510632)

摘要:【目的】观察纳米金-表阿霉素复合物(EPI-AuNP)能否抑制人脐静脉内皮细胞(HUVEC)、人肝癌细胞(HepG2)的增殖。【方法】采用化学合成法制备 EPI-AuNP,通过紫外-可见吸收光谱、荧光淬灭实验、动态光散射及 Zeta 电位变化对其进行鉴定。体外实验分为 AuNP 处理组、EPI 处理组、EPI-AuNP 处理组和空白对照组。将 HUVEC、HepG2 细胞分别接种于 96 孔板,培养 24 h 后各组分别加入 AuNP 溶液、EPI 溶液、EPI-AuNP 溶液和无血清培养液 200 μ L,继续培养 24 h 后:MTT 比色法检测 HUVEC、HepG2 细胞生存率;紫外-可见分光光度法检测各细胞内 EPI 的积聚量。【结果】紫外-可见吸收光谱显示: AuNP 的最大吸收峰在 520 nm 处,而 EPI-AuNP 在 525 nm 处。EPI (100 mg/L)荧光强度为 195.2 ± 7.5 ;EPI-AuNP 为 16.4 ± 5.0 , $P=0.000$ 。AuNP 的平均粒径及 Zeta 电位分别为: (14.34 ± 0.75) nm、 (-21.19 ± 0.64) mV;EPI-AuNP 为: (18.54 ± 1.84) nm、 (-15.34 ± 0.72) mV, $P<0.01$ 。体外实验:MTT 比色法结果显示 EPI 处理组 HUVEC、HepG2 细胞的生存率分别为 $(29.25 \pm 1.59)\%$ 、 $(71.10 \pm 4.16)\%$;EPI-AuNP 处理组: $(21.29 \pm 1.51)\%$ 、 $(43.82 \pm 2.21)\%$, $P=0.000$ 。【结论】成功合成 EPI-AuNP 复合物,体外实验证实其对 HUVEC、HepG2 细胞均具有增殖抑制作用。

关键词: 纳米金-表阿霉素复合物;HUVEC;HepG2 细胞

中图分类号: R453.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2012)02-0172-06

In Vitro Antitumor Effects of Epirubicin-nanogold Compounds

ZHAO Xiao-xu¹, PAN Yun-long^{1*}, HU Yang-zhi¹, QIN Li², DING Hui¹, WU Qin¹

(1.Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China; 2.Department of Histology and Embryology, Medical College of Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: 【Objective】To observe the in vitro antitumor effects of epirubicin-nanogold compounds (EPI-AuNP). 【Methods】EPI-AuNP was prepared by chemosynthesis and investigated using UV-Vis spectrophotometer, fluorescence studies, dynamic light scattering, and zeta potential. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and HepG2 cells were divided into 4 groups: AuNP treatment group, EPI treatment group, EPI-AuNP treatment group and control group. After seeded in 96-well plate and cultured for 24 h separately, HUVEC and HepG2 cells were treated with 200 μ L of AuNP, EPI, EPI-AuNP, and serum-free medium, respectively. Inhibition effect of each group on the HUVEC and HepG2 cells was assessed using MTT colorimetric method. UV-Vis spectrophotometer was applied to detect the cells epirubicin accumulation of different groups. 【Results】A red shift in the SPR band maxima in the EPI-AuNP spectrum ($\lambda_{max} \sim 525$ nm) as compared with the spectrum of AuNP alone ($\lambda_{max} \sim 520$ nm); The fluorescence intensity of EPI (100 mg/L) was (195.2 ± 7.5) and EPI-AuNP was (16.4 ± 5.0) , $P=0.000$. The hydrodynamic diameter of AuNP was (14.34 ± 0.75) nm while EPI-AuNP was (18.54 ± 1.84) nm. Meanwhile, the zeta potential of AuNP was (-21.19 ± 0.64) mV while EPI-AuNP was (-15.34 ± 0.72) mV, $P<0.01$. The HUVEC survival rate of EPI-AuNP treatment group [$(21.29 \pm 1.51)\%$] was lower than the EPI group [$(29.25 \pm 1.59)\%$]. The HepG2 cells survival rate of EPI-AuNP treatment group [$(43.82 \pm 2.21)\%$] was lower than the EPI group [$(71.10 \pm 4.16)\%$], $P<0.01$. 【Conclusions】EPI-AuNP has been synthesized and indicated enhanced drug potency in vitro by MTT assay.

Key words: epirubicin-nanogold compounds; HUVEC; HepG2 cells

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 33(2): 172-177]

收稿日期: 2011-11-18

基金项目: 国家基础研究 973 计划项目(2010CB833603); 国家自然科学基金资助项目(30772131); 广东省自然科学基金资助项目(8151063201000034)

作者简介: 赵晓旭, 临床医学硕士, 研究方向: 普外科疾病与腹腔镜研究, E-mail: zhaoxiaoxu1733@163.com; * 通信作者: 潘运龙, E-mail: tpanyl@jnu.edu.cn

表阿霉素(epirubicin, EPI)为第二代蒽醌类抗肿瘤抗生素,在肿瘤的治疗中占有重要地位,但是由于靶向性差限制了其进一步临床应用^[1],如何提高EPI的靶向性已成为目前急需解决的问题。近年来,纳米生物学的发展为其提供了新的解决思路:将EPI组装于纳米载体上,组成纳米载药系统,该系统既可以提高EPI靶向性,又可以延长其体内滞留时间,从而提高药物疗效^[2]。纳米金(gold nanoparticles, AuNP)是直径介于1~100 nm的金颗粒,具有生物相容性好、组织渗透性强、表面易于修饰等优点^[3]。有研究表明:AuNP本身具有抗肿瘤血管生成作用,其主要机制为:AuNP可以结合血管内皮生长因子(VEGF165)的肝素结合位点,阻断其激活受体VEGFR2,进而抑制肿瘤血管内皮细胞的活化增殖^[4-5]。另外,AuNP可以通过物理吸附、离子键结合、共价结合等方式结合抗肿瘤药物,组成AuNP载药系统^[6]。该系统理论上既可以抗肿瘤血管生成,又可以抗肿瘤本身,发挥多靶点抗肿瘤作用。本实验中,课题组成成功合成纳米金-表阿霉素载药系统(epirubicin-nanogold compounds, EPI-AuNP),体外观察其对入脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)、人肝癌细胞(HepG2)的增殖抑制作用,为将其进一步应用于体内多靶点抗肿瘤作用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

表阿霉素(EPI)为美国Sigma公司产品,纳米金(AuNP)自行制备:合成原料氯金酸、柠檬酸钠均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。RPMI-1640培养液、L-谷氨酰胺、青霉素及链霉素均购于美国Hyclone公司;M199培养液、胎牛血清、胰蛋白酶为Gibco公司产品,MTT(四甲基偶氮唑盐)及DMSO(二甲基亚砷)为美国Sigma公司产品,实验用水为超纯水。人肝癌细胞株HepG2由本科室保存,人脐静脉内皮细胞(HUVEC)为原代分离培养。动态激光散射仪(BI9000AT)为美国Brookhaven公司产品;紫外-可见分光光度计(Lambda 45)为美国PerkinElmer公司产品;透射电子显微镜(TECNAI 10)为Philips公司产品;全波长多功能酶标仪(safire II)为美国Bio-Rad公司

产品;相关酶标板为Costar酶标板。

1.2 AuNP的合成及鉴定

我们采用氯金酸还原法,即利用柠檬酸将氯金酸中的 Au^{+3} 还原为 Au^0 。合成所用器皿均经过王水处理,5 mL柠檬酸钠(38.8 mmol/L)加入煮沸的50 mL氯金酸(1 mmol/L)溶液中,用力搅拌过夜,溶液变为葡萄酒色,AuNP即合成。冷却至室温,用0.22 μ m滤器过滤,于4 $^{\circ}C$ 在玻璃瓶中保存备用;利用透射电子显微镜(TEM)和紫外-可见分光光度计(UV-Vis)对其进行鉴定。

1.3 EPI-AuNP复合体的合成

取合成后的AuNP溶液4 mL,用超纯水稀释至8 mL,用1 mol/L NaOH溶液调pH为8.0(根据预实验结果),然后加入一定浓度的EPI溶液2 mL。置于恒温空气摇床(120 r/min) 37 $^{\circ}C$ 过夜。然后20 000 r/min($r = 6.4$)离心40 min,弃去上清液,用0.01 mol/L PB液冲洗3次。重复离心、冲洗3次后将制备的EPI-AuNP重悬于0.01 mol/L PB液中备用。

1.4 EPI-AuNP复合体的鉴定

取相同浓度AuNP、EPI-AuNP溶液:①动态激光散射仪(DLS)对其粒径变化进行检测;②Zeta电位仪检测其Zeta电位变化;③紫外-可见分光光度计(UV-Vis)对其吸收光谱进行检测。另外,利用全波长多功能酶标仪(safire II)(激发波长500 nm,发射波长560 nm)对相同浓度EPI、EPI-AuNP溶液的荧光强度进行检测。

1.5 EPI-AuNP复合体对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的影响

1.5.1 HUVEC的分离培养 取本医院产科健康产妇足月顺产或剖宫产的脐带,长度>20 cm,无菌条件下用PBS缓冲液洗净血迹,将脐静脉两端夹闭后管腔内注入2.5 g/L胰酶进行消化,10 min后收集脐静脉消化液,1 000 r/min($r = 16.1$ cm)离心10 min,轻轻弃去上清液,将HUVEC重悬于完全培养基(M199+100 mL/L胎牛血清),37 $^{\circ}C$ 、体积分数5% CO_2 培养箱培养。根据细胞生长情况,2~3 d换液1次。传代至第3代时进行以下实验。

1.5.2 MTT比色法检测各组HUVEC的生存率 实验分为AuNP处理组、EPI处理组、EPI-AuNP处理组和空白对照组,每组设6个复孔。HUVEC以 5×10^3 个/孔接种于96孔板,培养24 h后各组分别加入1 μ g/L AuNP、2 mg/L EPI、含2 mg/L EPI的

EPI-AuNP 溶液和无血清培养液 200 μL , 继续培养 24 h。实验终止前 4 h, 每孔加入 0.5% MTT 溶液 20 μL 。4 h 后弃去上清液, 加入 DMSO 150 μL /孔。用多功能酶标仪(测量波长 570 nm, 参比波长 630 nm)测吸光度(A)值, 细胞生存率(%)=(实验组 A 值/对照组 A 值) $\times 100\%$, 以上实验重复 3 次。

1.5.3 紫外-可见分光光度计 (UV-Vis) 检测 HUVEC 内 EPI 的积聚量 实验组分为 EPI 处理组和 EPI-AuNP 处理组, 每组设 6 个复孔。将 HUVEC 以 1×10^5 个/孔种于 6 孔板。培养 24 h 后各组分别加入 EPI 溶液 (10 mg/L) 和 EPI-AuNP 溶液(含相同浓度 EPI) 1 mL。继续培养 2 h 后将细胞用胰酶消化, 移入 1.5 mL EP 管中, 离心(2 000 r/min, $r = 15.9$ min), 0.1 mol/L PBS 洗 3 次后弃上清, 1% Triton X-100 (100 μL) 裂解细胞, UV-Vis 测其 480nm 处吸光度(A), 根据 EPI 浓度-吸光度标准曲线得出各组 HUVEC 细胞内的 EPI 积聚量。

1.6 EPI-AuNP 复合体对 HepG2 细胞的影响

1.6.1 HepG2 细胞的培养 使用含 100 mL/L 胎牛血清、青霉素 1×10^5 U/L、链霉素 100 mg/L 的 RPMI-1640 培养 HepG2 细胞, 2 d 更换培养液 1 次。待 HepG2 细胞铺满培养瓶底的 80% ~ 90% 后, 进行传代培养。

1.6.2 MTT 比色法检测各组 HepG2 细胞的生存率 实验分为 AuNP 处理组、EPI 处理组、EPI-AuNP 处理组和空白对照组, 每组设 6 个复孔。HepG2 细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 培养 24 h 后分别加入 10 $\mu\text{g/L}$ AuNP 溶液、20 mg/L EPI 溶液、含 20 mg/L EPI 的 EPI-AuNP 溶液和无

血清培养液 200 μL , 继续培养 24 h。MTT 比色法检测各组 HepG2 细胞的生存率。

1.6.3 UV-Vis 检测 HepG2 细胞内 EPI 的积聚量

实验组分为 EPI 处理组和 EPI-AuNP 处理组, 每组设 6 个复孔。将 HepG2 细胞以 1×10^5 个/孔种于 6 孔板。培养 24 h 后各组分别加入 EPI 溶液 (20 mg/L) 和 EPI-AuNP 溶液(含相同浓度 EPI) 1 mL。继续培养 2 h 后用胰酶消化细胞, 移入 1.5 mL EP 管中, 离心(2 000 r/min, $r = 15.9$ cm 5 min), 0.1 mol/L PBS 洗 3 次后弃上清, 1% Triton X-100 (100 μL) 裂解细胞, UV-Vis 检测各组 HepG2 细胞内 EPI 的积聚量。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行分析: 统计资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对应组间比较用完全随机设计资料的方差分析检验; 两组之间比较采用两独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AuNP 的合成及鉴定

通过透射电子显微镜(TEM)观察到(图 1A): AuNP 颗粒呈球形, 大小均匀, 直径在 15 nm 左右, 离散度好; 紫外-可见吸收光谱(UV-Vis)显示 AuNP 的最大吸收峰在 520 nm 处(图 1B)。

2.2 EPI-AuNP 复合体的合成及鉴定

2.2.1 紫外-可见吸收光谱 AuNP 的最大吸收峰在 520 nm 处, 而 EPI-AuNP 的最大吸收峰在 525 nm 处, 该最大吸收峰的红移(5 nm)是由于 EPI 吸

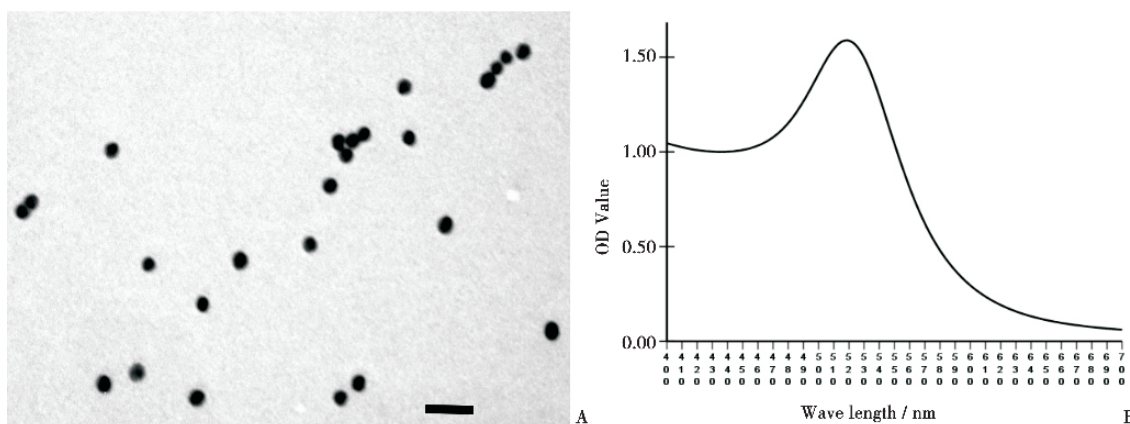


图 1 AuNP 的透射电子显微镜图像和紫外-可见吸收光谱(B)

Fig.1 TEM micrograph(A) and UV-visible absorption spectra(B) of gold nanoparticles

A showed 15 nm spherical gold nanoparticles with a nearly uniform particle size distribution. Bar: 40 nm. B showed the observed absorption peak of AuNP was at 520 nm.

附于 AuNP 表面改变了 AuNP 的介电常数, 间接表明 AuNP 与 EPI 发生有效结合(图 2)。

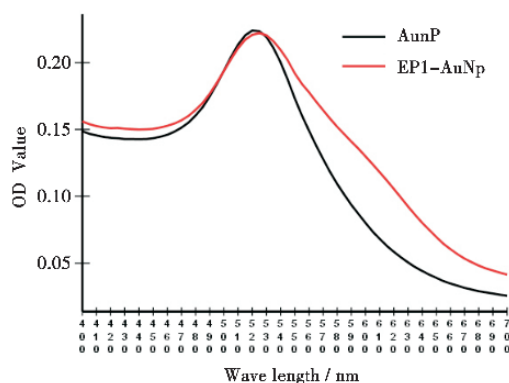


图 2 AuNP 和 EPI-AuNP 的紫外-可见吸收光谱

Fig.2 UV-visible absorption spectra of AuNP and EPI-AuNP

UV-visible spectra showing the change in absorbance and shift in λ_{max} of gold nanoparticles after incubation with epirubicin.

2.2.2 荧光淬灭实验结果 该实验是检验 EPI 和 AuNP 能否有效结合的重要手段, 因为 AuNP 可以对 EPI 发出的荧光进行有效淬灭。EPI (100 mg/L) 经 500 nm 波长激发后可以在 560 nm 波长处发出荧光, 其荧光强度为 195.2 ± 7.5 , 而结合的 AuNP 可以通过与 EPI 的电子之间相互作用对其荧光产生淬灭效应; EPI-AuNP 的荧光强度为 16.4 ± 5.0 , $t=62.619, P=0.000$, 差异有统计学意义(图 3)。

2.2.3 动态激光散射仪(DLS)检测 AuNP 和 EPI-AuNP 的粒径 AuNP 的平均粒径为 $(14.34 \pm$

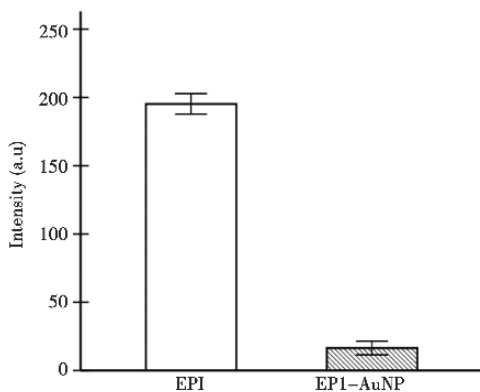


图 3 EPI 和 EPI-AuNP 的荧光强度

Fig.3 The fluorescence intensity of of AuNP and EPI-AuNP

Epirubicin was highly fluorescent but with the addition of gold nanoparticles, quenching of fluorescence was observed. $\bar{x} \pm s, n = 10$

$0.75)$ nm, EPI-AuNP 的平均粒径为 (18.54 ± 1.84) nm, $t=-4.722, P=0.005$, 差异有统计学意义(表 1)。

2.2.4 Zeta 电位仪检测结果 AuNP 的 Zeta 电位为 (-21.19 ± 0.64) mV; EPI-AuNP 的 Zeta 电位为 (-15.34 ± 0.72) mV, $t=-13.543, P=0.000$, 差异有统计学意义。

表 1 AuNP 和 EPI-AuNP 的流体粒径 (nm) 和 Zeta 电位 (mV)

Table 1 The hydrodynamic diameter and zeta potential of AuNP and EPI-AuNP ($\bar{x} \pm s$)

Nanoparticles	AuNP	EPI-AuNP
Hydrodynamic diameter/nm	14.34 ± 0.75	$18.54 \pm 1.84^{1)}$
Zeta potential/mV	-21.19 ± 0.64	$-15.34 \pm 0.72^{2)}$

1) compared with AuNP, $P < 0.01$; 2) compared with AuNP, $P < 0.01$. pH = 8.0

2.3 AuNP、EPI 和 EPI-AuNP 复合体对 HUVEC 的影响

2.3.1 MTT 结果 如图 4 所示: 与对照组比较, AuNP (1 μ g/L) 溶液对 HUVEC 的生存率几无影响 ($t=-0.180, P=0.861$); EPI (2 mg/L) 处理组 HUVEC 的生存率为 $(29.25 \pm 1.59)\%$, $t=46.992, P=0.000$; EPI-AuNP 处理组 HUVEC 的生存率为 $(21.29 \pm 1.51)\%$, 与对照组以及 EPI 处理组相比, 其对 HUVEC 生存率的影响均具有统计学意义 ($t=52.773, P=0.000; t=8.868, P=0.000$)。

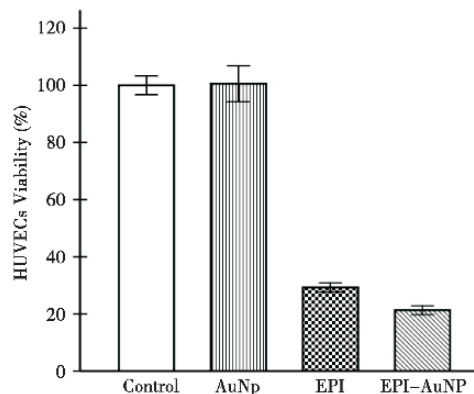


图 4 不同药物处理后 HUVEC 的生存率

Fig.4 The HUVEC viability of different groups with MTT assay

Data were presented as $\bar{x} \pm s$ from 3 independent experiments. Comparing EPI-AuNP treatment group with the control group and EPI treatment group, the HUVEC viability was significantly different ($P < 0.01$). $n = 6$

2.3.2 UV-Vis 结果 图 5 显示了各药物处理组 HUVEC 细胞内 EPI 的积聚量, EPI 处理组: $(1.19 \pm 0.17) \mu\text{g}$; EPI-AuNP 处理组: $(2.61 \pm 0.55) \mu\text{g}$, $t = -6.101$, $P = 0.000$, 差异有统计学意义。

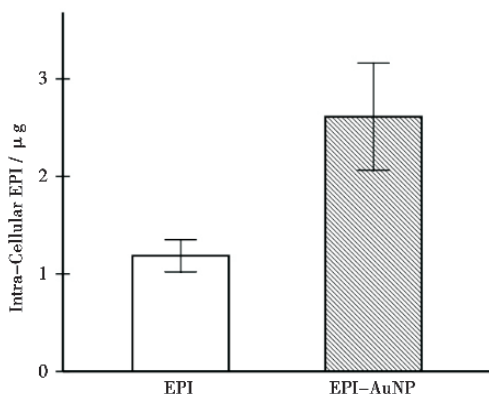


图 5 不同组别 HUVEC 细胞内 EPI 的积聚量

Fig.5 The epirubicin accumulation of HUVEC of two groups tested by UV-Vis

Data were presented as $\bar{x} \pm s$, $n=6$. The EPI-AuNP treatment group had the maximal cells accumulation of epirubicin ($P < 0.01$).

2.4 EPI-AuNP 复合体对 HepG2 细胞的影响

2.4.1 MTT 结果 如图 6 所示:与对照组相比较, AuNP($10 \mu\text{g/L}$)溶液对 HepG2 细胞的生存率没有影响($t = 1.401$, $P = 0.192$)。EPI(20 mg/L)处理组 HepG2 细胞的生存率为 $(71.10 \pm 4.16)\%$, $t = 14.195$, $P = 0.000$ 。EPI-AuNP 处理组 HepG2 细胞的生存率为 $(43.82 \pm 2.21)\%$, 明显低于对照组和 EPI 处理组($t = 38.962$, $P = 0.000$; $t = 14.203$, $P = 0.000$)。

2.4.2 UV-Vis 结果 图 7 显示了各组 HepG2 细胞内 EPI 的积聚量, EPI 处理组: $(1.72 \pm 0.13) \mu\text{g}$; EPI-AuNP 处理组: $(3.65 \pm 0.20) \mu\text{g}$, $t = -19.976$, $P = 0.000$, 差异有统计学意义。

3 讨论

本课题组成功合成了纳米金-表阿霉素载药系统(EPI-AuNP):①紫外-可见吸收光谱(图 2)显示 EPI-AuNP 较 AuNP 最大吸收峰发生红移(5 nm),该最大吸收峰的红移是由于 EPI 的吸附改变了 AuNP 表面的介电常数,表明 AuNP 与 EPI 发生有效结合^[7]。②荧光淬灭实验是检验 EPI 和 AuNP 能否有效结合的重要手段,因为 AuNP 可以对 EPI 发出的荧光进行有效淬灭。EPI (100 mg/L)经 500

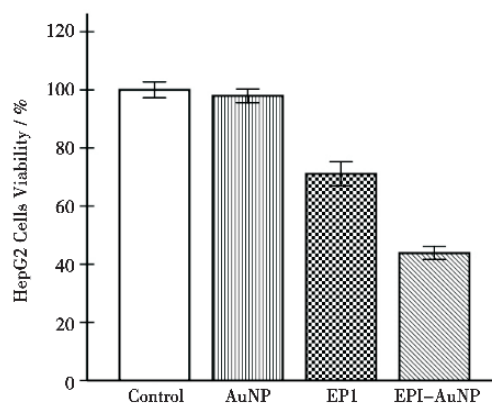


图 6 不同药物处理后 HepG2 细胞的生存率

Fig.6 The HepG2 cells viability of different groups with MTT assay

Data were presented as $\bar{x} \pm s$ from 3 independent experiments. Comparing EPI-AuNP treatment group with the control group and EPI treatment group, the HepG2 cells viability was significantly different ($P < 0.01$). $\bar{x} \pm s$, $n=6$

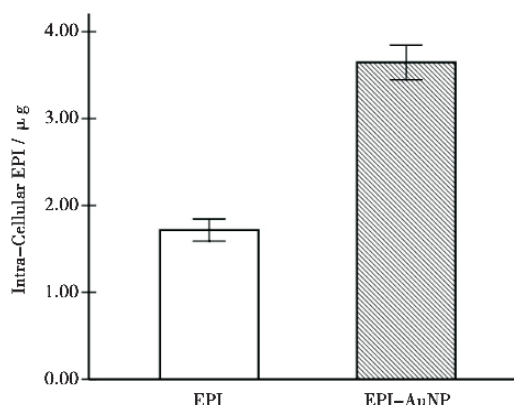


图 7 不同组别 HepG2 细胞内 EPI 的积聚量

Fig.7 The epirubicin accumulation of HepG2 cells of two groups tested by UV-Vis

Data were presented as mean \pm SD, $n=6$. The EPI-AuNP treatment group had the maximal cells accumulation of epirubicin($P < 0.01$)

nm 波长激发后在 560 nm 波长处发出荧光, 其荧光强度为 195.2 ± 7.5 , 而结合的 AuNP 可以通过与 EPI 的电子之间相互作用对其荧光产生淬灭效应^[8]: EPI-AuNP 的荧光强度为 16.4 ± 5.0 , $P < 0.01$ (图 3), 该实验证实了 EPI 与 AuNP 的成功结合, 并且其结合的方式包含静电作用;③通过动态激光散射仪(DLS)检测 AuNP 和 EPI-AuNP 的粒径(表 1), 结果如下: AuNP 的平均粒径为 $(14.34 \pm 0.75) \text{ nm}$, EPI-AuNP 的平均粒径为 $(18.54 \pm 1.84) \text{ nm}$, $P < 0.01$ 。该粒径的变化可以从两方面来理解:① EPI

在 AuNP 表面的吸附使其粒径增加; ② EPI 分子中的氨基、酚羟基等基团可以吸附溶液中的抗平衡离子, 形成双电子层, 增加 EPI-AuNP 的粒径^[9]。(4) Zeta 电位仪检测结果显示: AuNP 的 Zeta 电位为 $(-21.19 \pm 0.64)\text{mV}$, 这是因为: AuNP 合成过程中的还原剂柠檬酸根环绕在 AuNP 表面, 防止其相互聚集, 成为 AuNP 的稳定剂。柠檬酸根自身含 3 个羧基 ($\text{pKa}_1=3.13, \text{pKa}_2=4.76, \text{pKa}_3=6.40$), 在 $\text{pH}=8.0$ 的环境中去质子化而带负电荷。EPI-AuNP 的 Zeta 电位为 $(-15.34 \pm 0.72)\text{mV}$, 其 Zeta 电位绝对值较 AuNP 减小, 表明 EPI 成功结合在 AuNP 表面。

EPI-AuNP 对 HUVEC 及 HepG2 细胞均有明显的增殖抑制作用。EPI 处理组 HUVEC、HepG2 细胞的生存率分别为 $(29.25 \pm 1.59)\%$ 、 $(71.10 \pm 4.16)\%$; EPI-AuNP 处理组 HUVEC、HepG2 细胞的生存率为 $(21.29 \pm 1.51)\%$ 、 $(43.82 \pm 2.21)\%$, 其较 EPI 对 HUVEC 及 HepG2 细胞生存率的影响均具有统计学意义 ($P < 0.01$)。图 5、7 分别显示了 EPI、EPI-AuNP 处理组 HUVEC 和 HepG2 细胞内 EPI 的积聚量, EPI 处理组: $(1.19 \pm 0.17)\mu\text{g}$ 、 $(1.72 \pm 0.13)\mu\text{g}$; EPI-AuNP 处理组: $(2.61 \pm 0.55)\mu\text{g}$ 、 $(3.65 \pm 0.20)\mu\text{g}$ 。 $P < 0.01$ 。这是由于 AuNP 可以与 HUVEC、HepG2 细胞膜蛋白相互作用, 促进细胞对 EPI-AuNP 的内吞作用, 增加 EPI 在细胞内的积聚量; 同时避免 EPI 在细胞内快速降解, 延长药物半衰期, 提高其抗肿瘤效果^[10-12]。

本实验成功合成了 EPI-AuNP, 并对其体外抗肿瘤作用进行了初步观察, 结果证实该纳米载药系统对 HUVEC、HepG2 细胞均具有增殖抑制作用, 且该抑制作用强于 EPI, 其主要机制为: EPI-AuNP 复合体可以增加 HUVEC、HepG2 细胞对 EPI 的内吞作用, 同时避免其在细胞内快速降解, 延长细胞内药物半衰期, 增加细胞内 EPI 的有效浓度, 从而发挥更强的细胞增殖抑制作用^[2,6]。该体外实验证实 EPI-AuNP 复合体对 HUVEC、HepG2 细胞均具有增殖抑制作用, 推测其在体内有多靶点抗肿瘤作用, 其体内实验有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, et al. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity [J]. *Pharmac Reviews*, 2004, 56: 185-229.
- [2] Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis [J]. *Ad Drug Delivery Reviews*, 2002, 54(5): 631-651.
- [3] Boisselier E, Astruc D. Gold nanoparticles in nanomedicine: Preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity [J]. *Chem Soc Rev*, 2009, 38(6): 1759-1782.
- [4] 潘运龙, 覃莉, 蔡继业, 等. 纳米金抑制血管内皮细胞增殖的分子机制 [J]. *中华实验外科杂志*, 2008, 25(9): 1421-1423.
- [5] 潘运龙, 邱思远, 孙加升, 等. 纳米金阻断 VEGF165 信号传导并抑制裸鼠肝癌血管生成 [J]. *中国肿瘤临床*, 2009, 36(5): 287-290.
- [6] Ghosh P, Han G, De M, et al. Gold nanoparticles in delivery applications [J]. *Ad Drug Delivery Reviews*, 2008, 60(9): 1307-1315.
- [7] Bhattacharya R, Patra CR, Earl A, et al. Attaching folic acid on gold nanoparticles using noncovalent interaction via different polyethylene glycol backbones and targeting of cancer cells [J]. *Nanotech Biol Med*, 2007, 3(3): 224-238.
- [8] Selvaraj V, Alagar M. Analytical detection and biological assay of antileukemic drug 5-fluorouracil using gold nanoparticles as probe [J]. *Inter J Pharmac*, 2007, 337(1-2): 275-281.
- [9] Katz E, Willner I. Integrated nanoparticle-biomolecule hybrid systems: Synthesis, properties, and applications [J]. *Ange Chemie Inter Ed*, 2004, 43(45): 6042-6108.
- [10] Daniel M C, Astruc D. Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology [J]. *Chem Reviews*, 2004, 104(9): 293-346.
- [11] Zhang BL, Li YQ, Fang CY, et al. Receptor-Mediated Cellular Uptake of Folate-Conjugated Fluorescent Nanodiamonds: A Combined Ensemble and Single-Particle Study [J]. *SMALL*, 2009, 5(23): 2716-2721.
- [12] 潘运龙, 赵晓旭, 覃莉, 等. 纳米金对表阿霉素的增敏作用 [J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28(4): 533-535.

(编辑 孙慧兰)