

藤黄酸智能响应脂质体-水凝胶纳米制剂的制备、表征及体外抗肿瘤活性研究^Δ

陈宇^{1*}, 黄胜楠², 王子昂¹, 赵云龙¹, 魏果健¹, 武思楠¹, 关延彬¹, 祝侠丽^{1#} (1. 河南中医药大学药学院, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学中医药科学院, 郑州 450046)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)05-0613-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.05.11



摘要 **目的** 制备藤黄酸(GA)智能响应脂质体-水凝胶纳米制剂,并对其进行表征和体外抗肿瘤活性研究。**方法** 采用乙醇注入法结合冷溶法,将GA和光敏剂吖啶菁绿(ICG)联合制成智能响应脂质体-水凝胶纳米制剂(GA-ICG-Lip-gel)。观察GA-ICG-Lip-gel的外观形态和微观形态,测定其包封率和载药量,考察其光热转换性能、光热稳定性、红外成像性质,测定其体外释放度。以人源乳腺癌MCF-7细胞为研究对象,考察GA-ICG-Lip-gel(或结合近红外光照射)对细胞活力、迁移能力的影响以及细胞对GA-ICG-Lip-gel的摄取能力。**结果** GA-ICG-Lip-gel在室温下呈溶液状态,而在37℃下则为凝胶状态;其微观结构致密、孔隙较小,包封率为 $(96.07 \pm 0.86)\%$ 、载药量为 $(6.28 \pm 1.16)\%$;经近红外光照射后,GA-ICG-Lip-gel温度升至42℃以上,且升温曲线未出现明显衰减,升温效率同时依赖于照射时间与药物浓度;相比于不含明胶酶的介质,GA-ICG-Lip-gel在含明胶酶的介质中的累积释放率增加。体外实验结果显示,MCF-7细胞对GA-ICG-Lip-gel的摄取较强;GA-ICG-Lip-gel可显著抑制MCF-7细胞的活力和迁移能力($P < 0.05$),且该抑制作用在近红外光照射下更强。**结论** 本研究成功制备GA-ICG-Lip-gel,该制剂具有良好的光热转换性能和温度/酶双重响应性释药特征,且对乳腺癌细胞的增殖、迁移具有显著的抑制作用。

关键词 藤黄酸;光敏剂;乳腺癌;脂质体水凝胶;光热治疗

Preparation, characterization, and *in vitro* antitumor activity of Gambogic acid-loaded intelligent responsive liposome-hydrogel nanopreparation

CHEN Yu¹, HUANG Shengnan², WANG Ziang¹, ZHAO Yunlong¹, WEI Gaojian¹, WU Sinan¹, GUAN Yanbin¹, ZHU Xiali¹ (1. Pharmacy College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Academy of Chinese Medical Science, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To prepare an intelligent responsive liposome-hydrogel nanopreparation co-loaded with gambogic acid (GA), and characterize its antitumor activity *in vitro*. **METHODS** GA-ICG-Lip-gel was prepared by ethanol injection and cold dissolution, incorporating GA and the photosensitizer indocyanine green (ICG). The appearance and microscopic morphology of GA-ICG-Lip-gel were observed, its encapsulation efficiency and drug loading capacity were measured, and its photothermal conversion performance, photothermal stability, and infrared imaging properties were investigated, along with the determination of its *in vitro* release profile. Human breast cancer MCF-7 cells were used as objects to investigate the effects of GA-ICG-Lip-gel (or with near-infrared light irradiation) on cell viability, migration ability, and the cellular uptake capacity of GA-ICG-Lip-gel. **RESULTS** GA-ICG-Lip-gel existed in a solution state at room temperature and transformed into a gel state at 37℃. Its microstructure was dense with small pores, and its encapsulation efficiency and drug loading were $(96.07 \pm 0.86)\%$ and $(6.28 \pm 1.16)\%$, respectively. After exposure to near-infrared light, the temperature of GA-ICG-Lip-gel rose above 42℃, with no significant attenuation observed in the heating curve. The heating efficiency was dependent on both the irradiation time and drug concentration. Compared to media without gelatinase, the cumulative release rate of GA-ICG-Lip-gel increased in media containing gelatinase. *In vitro* studies showed that GA-ICG-Lip-gel could be efficiently taken up by MCF-7 cells; GA-ICG-Lip-gel significantly inhibited the viability and migration ability of MCF-7 cells ($P < 0.05$), and this inhibitory effect was further enhanced under near-infrared light irradiation. **CONCLUSIONS** This study successfully prepares GA-ICG-Lip-gel, which exhibits favorable photothermal conversion properties and temperature/enzyme dual-responsive drug release characteristics, and

^Δ **基金项目** 国家自然科学基金面上项目(No.82574878);河南省高等学校重点科研项目(No.23A360007);河南省科技攻关项目(No.262102311256)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向:中药新剂型、新技术与评价。
E-mail: yunchenshi@163.com

通信作者 教授,博士生导师。研究方向:中药新剂型、新技术与评价。
E-mail: zhuxiali1980@126.com

demonstrates significant inhibitory effects on the proliferation and migration of breast cancer cells.

KEYWORDS gambogic acid; photosensitizer; breast cancer; liposome-hydrogel; photothermal therapy

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,其临床治疗方案主要包括手术、放疗和化疗^[1]。然而,这些传统手段仍存在明显的局限性——手术难以清除微转移灶、放化疗易损伤正常组织且存在毒副作用^[2-3]。近年来,光热疗法、免疫疗法等新兴疗法为乳腺癌的治疗提供了新的方向,但单一疗法往往疗效有限,且易产生耐药性^[4-6]。因此,联合治疗策略因其能够发挥协同增效作用而展现出显著优势^[6],特别是将智能响应型药物递送系统应用于联合疗法,能够实现药物的时空可控释放^[7],从而有望进一步提高乳腺癌治疗的精准性与效果。

光热疗法是一种利用光敏剂在近红外光(near-infrared light, NIR)照射下将光能转化为局部高热,从而消融肿瘤组织的无创治疗技术^[8]。然而,其疗效常受限于热休克蛋白介导的肿瘤细胞热耐受^[9]。藤黄酸(gambogic acid, GA)是从藤黄干燥树脂中提取出来的纯化单体,目前已被广泛应用于胰腺癌、结直肠癌、肺癌、乳腺癌等多种癌症的治疗;其可有效抑制肿瘤细胞的抗热损伤能力,从而与光热疗法产生显著的协同增效作用^[10]。然而,GA存在水溶性差、稳定性低等不足^[11]。脂质体作为一种经典的纳米载体,可高效包封GA,并可通过表面修饰实现靶向递送,但效率有限^[12-13]。温度敏感型原位水凝胶是一种可对温度响应的高分子聚合物凝胶,其在室温下保持溶液状态,经局部注射至肿瘤区域后,在生理温度下可迅速发生“溶胶→凝胶”的转变,从而实现药物的局部递送与持续释放,提升肿瘤治疗的靶向性与疗效^[14]。基于此,本研究拟将抗肿瘤药物GA和光敏剂吖啶菁绿(indocyanine green, ICG)联合制成智能响应脂质体-水凝胶纳米制剂(即GA-ICG-Lip-gel),并对该纳米制剂的理化性质进行表征,再以人源乳腺癌MCF-7细胞为研究对象,考察该制剂的体外抗肿瘤活性,以期乳腺癌的治疗提供新参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Nano ZS90型激光粒度及Zeta电位分析仪(英国Malvern Panalytical公司)、UV-1800型紫外可见分光光度计[翱艺仪器(上海)有限公司]、1510型全波长酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)、MW-GX-808/3000 mW型近红外激光器(长春镭仕光电科技有限公司)、Fluke Ti-400型红外热成像仪(美国Fluke公司)、e2695型高效液相色谱系统(美国

Waters公司)、NDJ-5S型数字旋转黏度计(上海方瑞仪器有限公司)、MIRA LMS型扫描电镜(捷克Tescan公司)、Hitachi-7800型透射电镜(日本Hitachi公司)、XDS-1B型倒置荧光显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 主要药品与试剂

GA(批号MUST-22093003,纯度≥99%)购自成都曼思特生物科技有限公司;ICG、胆固醇(批号分别为M18HS175212、S18IS226039)购自上海源叶生物科技有限公司;蛋黄卵磷脂(批号AL21005)购自艾伟拓(上海)医药科技有限公司;壳聚糖(批号RH524220)购自上海捷世凯生物科技有限公司;明胶、磷酸(批号分别为C15762136、P916338)购自上海麦克林生化科技有限公司; β -甘油磷酸钠(批号E225185)购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;胎牛血清(批号23120702)购自浙江天杭生物科技股份有限公司;CCK-8试剂盒、DAPI染色液试剂盒(批号分别为Z947240907、042023240102)均购自上海碧云天生物技术股份有限公司;胰蛋白酶消化液(批号GA2407008)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 细胞

人源乳腺癌MCF-7细胞由郑州大学药学院赠予。

2 方法与结果

2.1 GA-ICG-Lip-gel的制备

2.1.1 GA-ICG-Lip的制备

采用乙醇注入法将GA和ICG联合制成脂质体(即GA-ICG-Lip)。精密称取处方量的蛋黄卵磷脂和胆固醇,溶于含20 mg/mL GA的无水乙醇中,作为有机相。将1.5 mg/mL的ICG溶液用水稀释,作为水相。在40℃、200 r/min搅拌条件下,将有机相快速注入水相中,持续搅拌2 min,再于40℃下旋蒸1 h以彻底去除乙醇;加水将溶液补至5 mL,并依次用0.45、0.22 μ m微孔滤膜各过滤3次,再使用脂质体挤出器挤出5次,即得GA-ICG-Lip。同上述方法,不加GA制备ICG-Lip。

2.1.2 GA-ICG-Lip-gel的制备

采用冷溶法制备GA-ICG-Lip-gel。在冰浴与磁力搅拌条件下,向3 mL 2.2%壳聚糖溶液中滴加0.5%明胶溶液0.5 mL,持续搅拌20 min;随后再逐滴加入0.5 mL 35% β -甘油磷酸钠溶液,继续搅拌10 min;再加入1 mL GA-ICG-Lip,避光条件下持续搅拌10 min,即得GA-ICG-Lip-gel。

2.2 GA含量测定方法的建立

2.2.1 对照品溶液的配制

精密称取GA对照品5 mg置于10 mL棕色容量瓶中,加入甲醇-0.1%磷酸溶液(95:5, V/V,下同)溶解并定容,即得GA质量浓度为500 $\mu\text{g/mL}$ 的GA储备液。精密吸取GA储备液适量,置于10 mL容量瓶中,加入甲醇稀释并定容,即得GA质量浓度为50 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的配制

分别取“2.1.1”项下制备的GA-ICG-Lip 适量,加入甲醇-0.1%磷酸溶液稀释并定容,即得供试品溶液。

2.2.3 色谱条件及专属性试验

本研究所用色谱柱为ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液,流速为1 mL/min,柱温为25 $^{\circ}\text{C}$,进样量为20 μL ,检测波长为361 nm。吸取“2.2.1”“2.2.2”项下对照品溶液、供试品溶液以及空白对照溶液(取“2.1.1”项下 ICG-Lip 按“2.2.2”项下方法制备)适量,用0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液适量按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,GA的保留时间为7.62 min,理论板数不低于3 000;空白对照溶液对测定无干扰,具体见图1(空白对照溶液图略)。

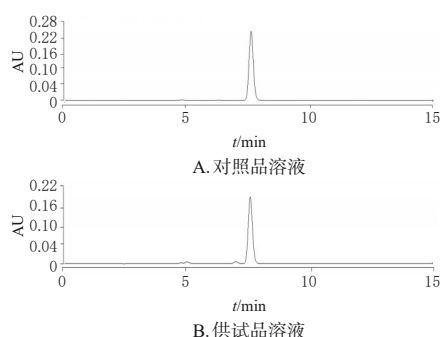


图1 GA专属性考察的色谱图

2.2.4 方法学考察

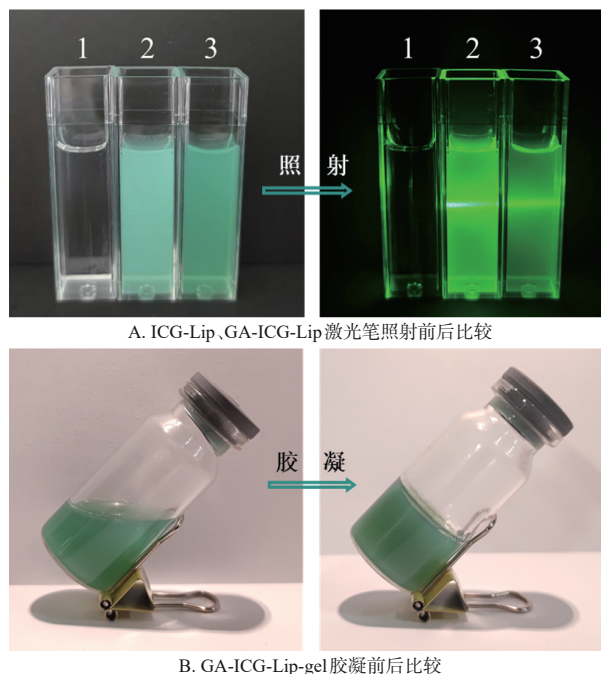
参考2025年版《中国药典》(三部)9101 分析方法验证指导原则^[15]进行方法学考察。结果显示,GA的标准曲线方程为 $y=30\,424x+25\,127$ ($r=0.999\,9$),线性范围为1~200 $\mu\text{g/mL}$;精密度试验、重复性试验的RSD均小于2.00%($n=6$);平均回收率为100.98%,RSD为0.59%($n=3$)。以上均符合指导原则相关要求。

2.3 GA-ICG-Lip-gel的理化性质表征

2.3.1 外观形态观察

取“2.1.1”项下 ICG-Lip、GA-ICG-Lip 适量,用水稀释10倍,在正常光线下肉眼观察其形态,再以激光笔照射两者并观察其形态。另取“2.1.2”项下 GA-ICG-Lip-gel 适量,在室温条件下观察其形态,再将其置于37 $^{\circ}\text{C}$ 水

浴条件下观察其形态。结果(图2)显示,ICG-Lip、GA-ICG-Lip 均澄清透明且色泽均匀,当以激光笔照射时均呈现出明显的丁达尔现象,表明两者均为稳定的纳米胶体分散体系;GA-ICG-Lip-gel 在室温下呈溶液状态,而在37 $^{\circ}\text{C}$ 下则迅速形成稳定的凝胶,表明其具有良好的温度响应性。



1:超纯水;2:ICG-Lip;3:GA-ICG-Lip。

图2 ICG-Lip、GA-ICG-Lip 与 GA-ICG-Lip-gel 的外观形态观察结果

2.3.2 微观形态观察

取“2.1.1”项下 ICG-Lip、GA-ICG-Lip 适量,用水稀释10倍并超声3 min后,滴加于喷碳铜网上,经2%磷钨酸负染后,采用透射电镜观察其微观形态。另取“2.1.2”项下 GA-ICG-Lip-gel 适量,采用扫描电镜观察其微观形态。结果(图3)显示,ICG-Lip 呈类球形[粒径为(189.6 ± 0.72)nm],具有清晰的双层膜结构;载药后(即 GA-ICG-Lip)仍保持完整的囊泡结构[粒径为(180.6 ± 0.65)nm],表明GA被成功包载于脂质体内部;GA-ICG-Lip-gel 的结构致密、表面光滑、孔隙较小,整体结构较为稳定。

2.3.3 包封率与载药量测定

采用超滤-离心法测定。取“2.1.1”项下 GA-ICG-Lip 1.0 mL,置于30 kDa超滤管中,于4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 条件下离心20 min,收集未渗漏的浓缩脂质体。随后,分别精密量取浓缩脂质体和GA-ICG-Lip 适量,用流动相稀释并超声破乳后,按“2.2.3”项下色谱条件进样分析,根据标准曲线计算浓缩脂质体和GA-ICG-Lip 中GA含量(分别记为 $W_{\text{包}}$ 和 $W_{\text{总}}$,另外GA-ICG-Lip 中除GA之外的辅料总量记为 $W_{\text{辅}}$);再根据公式计算包封率和载药

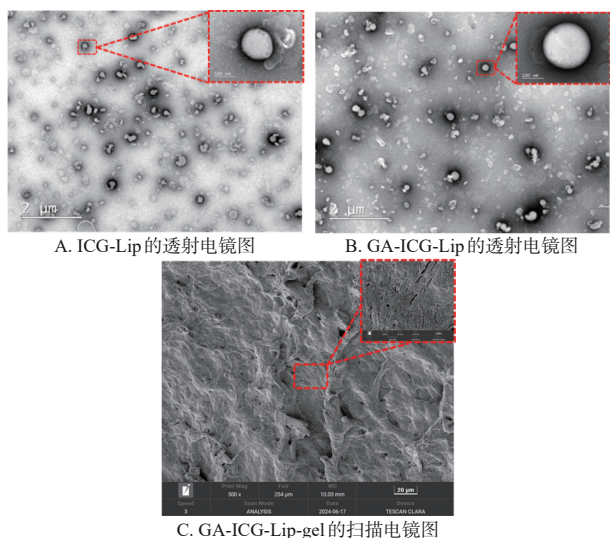


图3 ICG-Lip、GA-ICG-Lip与GA-ICG-Lip-gel的微观形态观察结果

量: 包封率 = $W_{\text{包}}/W_{\text{总}} \times 100\%$, 载药量 = $[W_{\text{包}}/(W_{\text{包}} + W_{\text{辅}})] \times 100\%$ 。结果显示, GA的包封率为 $(96.07 \pm 0.86)\%$, 载药量为 $(6.28 \pm 1.16)\%$ 。

2.3.4 光热转换性能考察

分别配制 ICG 质量浓度均为 0.06 mg/mL 的 ICG、GA-ICG-Lip、GA-ICG-Lip-gel 溶液各 1 mL, 置于 1.5 mL 离心管中。以超纯水作为空白对照, 采用 NIR (808 nm, 2.5 W/cm^2) 照射上述样品, 每 10 s 记录 1 次溶液温度, 然后以照射时间 (t/s) 为横坐标, 温度 ($T/^\circ\text{C}$) 为纵坐标绘制光热升温曲线, 以评价各样品的光热转换行为。结果 (图 4A) 显示, 在 NIR 照射下, 3 种溶液的升温曲线相似, 且在 NIR 照射 80 s 后 3 种溶液的温度均升至 42°C 以上, 表明 GA-ICG-Lip-gel 具有良好的光热转换性能。

2.3.5 光热稳定性考察

取“2.1.2”项下 GA-ICG-Lip-gel 1 mL, 置于 1.5 mL 离心管中, 采用 NIR (808 nm, 2.5 W/cm^2) 照射该样品, 每 10 s 记录 1 次温度; 照射 3 min 后关闭光源, 让样品自然冷却至初始温度; 相同条件循环 5 次。以照射时间 (t/s) 为横坐标, 温度 ($T/^\circ\text{C}$) 为纵坐标绘制光热升温循环曲线。结果 (图 4B) 显示, 在 NIR 照射下, GA-ICG-Lip-gel 的升温曲线未出现明显衰减, 表明 GA-ICG-Lip-gel 的光热稳定性良好。

2.3.6 红外热成像性质考察

配制 ICG 质量浓度分别为 3、6、12、60 $\mu\text{g/mL}$ 的 GA-ICG-Lip-gel 样品, 以超纯水作为空白对照, 采用 NIR (808 nm, 2.5 W/cm^2) 照射上述样品; 再利用红外热成像仪每 30 s 采集 1 次样品温度变化图像, 持续采集 180 s。结果 (图 4C) 显示, 采集过程中, 超纯水的温度变化不大 (由 25.1°C 升至 25.8°C); 不同浓度的 GA-ICG-Lip-gel

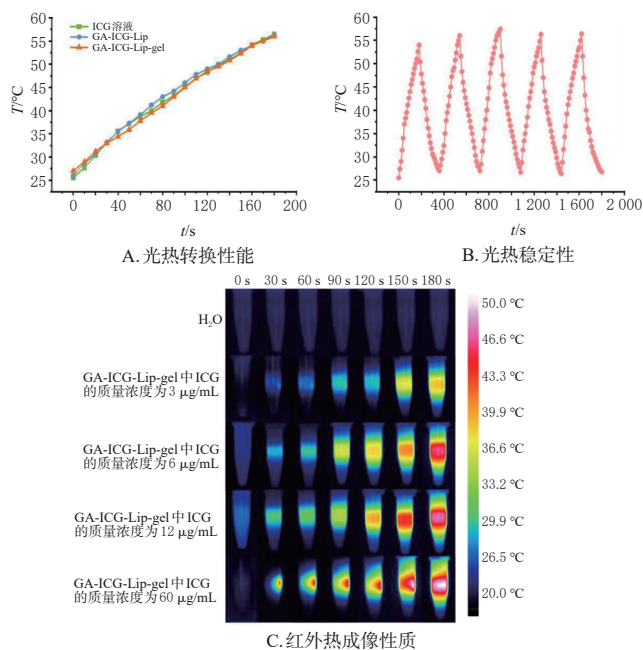


图4 GA-ICG-Lip-gel的光热转换性能、光热稳定性、红外热成像性质考察结果

随着 ICG 质量浓度和时间的增加, 温度逐渐增加, 至照射终点时温度分别为 36.5 、 40.2 、 45.4 、 50.9°C 。这表明 GA-ICG-Lip-gel 的升温效率同时依赖于照射时间与药物浓度。

2.3.7 体外释放度测定

取 1.0 mL GA-ICG-Lip-gel (GA 质量浓度为 0.4 mg/mL) 置于透析袋中, 将其转移至 20 mL 不含或含明胶酶 (质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$, 以模拟肿瘤微环境) 的 40% 乙醇-磷酸盐缓冲液 (2:3, V/V , pH 5.0) 介质中, 然后将上述体系分别置于 37°C (模拟肿瘤患者体温) 或 42°C (模拟患者肿瘤部位经 NIR 照射后的体温) 条件下进行体外释放度考察。将转速设置为 100 r/min, 于 0.25~72 h 内的多个时间点, 分别取 0.2 mL 介质 (每次取样后补加等量新鲜介质), 经滤膜过滤后, 按“2.2.3”项下方法进样测定, 计算累积释放率 [累积释放率 = $(\sum_{i=1}^{n-1} V_e C_i + V_0 C_n) / m_{\text{GA}} \times 100\%$ (式中, $V_0 = 20 \text{ mL}$, $V_e = 0.2 \text{ mL}$, C_i 为 i 时间点的 GA 浓度, C_n 为取样第 n 次时的 GA 浓度, m_{GA} 为 GA-ICG-Lip-gel 中的 GA 总质量)], 并绘制体外释药曲线。结果 (图 5) 显示, 相比于不含明胶酶的介质, GA-ICG-Lip-gel 在含明胶酶的介质中 (37°C 或 42°C) 的累积释放率增加, 这表明 GA-ICG-Lip-gel 具有明胶酶响应性释药特性。

2.4 GA-ICG-Lip-gel的体外抗肿瘤活性研究

2.4.1 细胞培养

将 MCF-7 细胞置于 37°C 、5% CO_2 培养箱中常规培养, 待细胞贴壁后, 每 24 h 更换培养基, 当细胞密度达 80% 时进行后续实验。

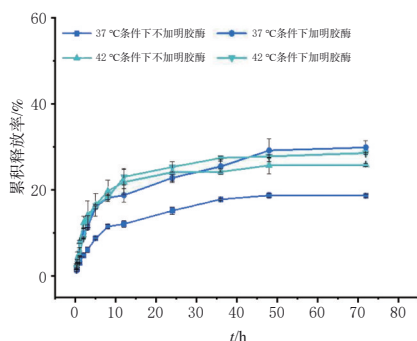
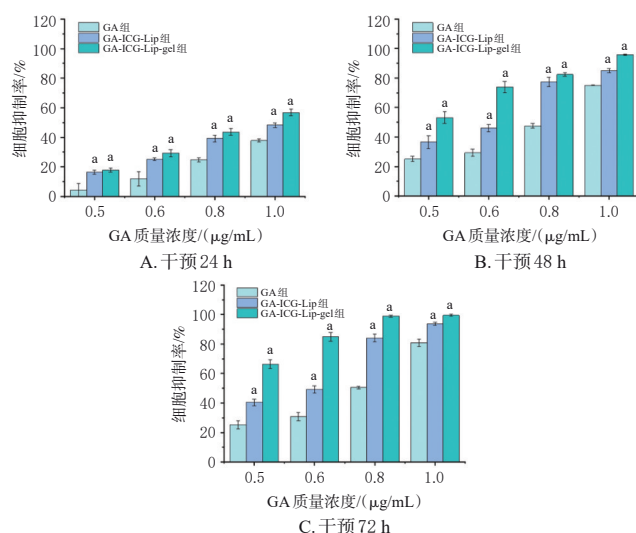


图5 GA-ICG-Lip-gel在不同条件下的体外释药曲线

2.4.2 GA-ICG-Lip-gel对细胞活力的影响

取对数生长期的MCF-7细胞适量,以 5×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中,培养24 h后,分为不同浓度GA组、GA-ICG-Lip组、GA-ICG-Lip-gel组(GA质量浓度为0.5、0.6、0.8、1.0 $\mu\text{g/mL}$,浓度根据预实验结果设置),另设置空白对照组(不含细胞,含CCK-8试剂)、阴性对照组(含细胞和完全培养基),每组设6个复孔。各组加入相应药液/培养基,继续培养24 h,然后加入100 μL 10% CCK-8试剂,继续培养2 h;然后采用酶标仪于450 nm波长下检测各孔光密度(optical density, OD)值,并计算细胞抑制率,细胞抑制率 $= (\text{OD}_{\text{阴性对照组}} - \text{OD}_{\text{给药组}}) / (\text{OD}_{\text{阴性对照组}} - \text{OD}_{\text{空白对照组}}) \times 100\%$ 。同法考察药物干预48、72 h后的效果。采用GraphPad Prism 9.5.0软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD- t 检验;检验水准 $\alpha=0.05$ 。结果(图6)显示,干预24、48、72 h后,在不同GA浓度下,与GA组比较,GA-ICG-Lip组、GA-ICG-Lip-gel组MCF-7细胞抑制率均显著升高($P<0.05$);另外,与GA-ICG-Lip组比较,GA-ICG-Lip-gel组MCF-7细胞抑制率有升高趋势。这表明GA-ICG-Lip-gel可有效抑制乳腺癌细胞增殖。

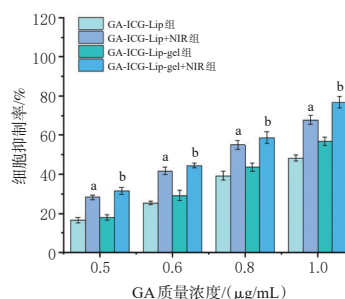


a: 与相应浓度GA组比较, $P<0.05$ 。

图6 各组细胞抑制率比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

2.4.3 NIR照射后GA-ICG-Lip-gel对细胞活力的影响

取对数生长期的MCF-7细胞适量,以 5×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中,培养24 h后,分为不同浓度GA-ICG-Lip组、GA-ICG-Lip+NIR组、GA-ICG-Lip-gel组、GA-ICG-Lip-gel+NIR组(GA质量浓度均分别为0.5、0.6、0.8、1.0 $\mu\text{g/mL}$,浓度根据“2.4.2”项下结果设置),每组设6个复孔;各组加入相应药液培养4 h后,GA-ICG-Lip+NIR组和GA-ICG-Lip-gel+NIR组采用NIR(808 nm, 2.5 W/cm^2)照射3 min,继续培养至24 h;再同“2.4.2”项下方法处理,计算细胞抑制率。结果(图7)显示,不同GA浓度下,与NIR照射前相比,NIR照射后GA-ICG-Lip和GA-ICG-Lip-gel对细胞的抑制率均显著升高($P<0.05$),且与GA-ICG-Lip+NIR组相比,GA-ICG-Lip-gel+NIR组细胞抑制率有升高趋势。这表明NIR照射能有效激发GA-ICG-Lip-gel的光热协同抗肿瘤效应。



a: 与GA-ICG-Lip组比较, $P<0.05$; b: 与GA-ICG-Lip-gel组比较, $P<0.05$ 。

图7 NIR照射后各组细胞抑制率比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

2.4.4 细胞对GA-ICG-Lip-gel的摄取行为考察

取对数生长期的MCF-7细胞适量,以 5×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中,培养24 h后,分为ICG组(因GA无荧光特性,故以ICG等效代替GA,质量浓度为0.09 $\mu\text{g/mL}$)和GA-ICG-Lip组、GA-ICG-Lip-gel组(GA质量浓度均为0.6 $\mu\text{g/mL}$),每组设3个复孔。各组细胞加入相应药液培养后,分别于不同时间点(0.5、1、2、4 h)收集细胞,经磷酸盐缓冲液清洗后,以4%多聚甲醛固定,再使用DAPI进行细胞核染色,采用荧光显微镜观察(摄取后呈玫红色荧光),并拍照。结果(图8)显示,不同时间点下,与ICG组比较,GA-ICG-Lip组、GA-ICG-Lip-gel组细胞的玫红色荧光均增强,且GA-ICG-Lip-gel组更明显。这表明MCF-7细胞对GA-ICG-Lip-gel的摄取作用较强。

2.4.5 GA-ICG-Lip-gel对细胞迁移的影响

取对数生长期的MCF-7细胞适量,以 5×10^3 个/孔的密度接种于6孔板中,培养24 h后,在细胞表面划痕。划痕完成后,采用Image J软件测量划痕面积(记为 $S_{\text{初}}$),再将细胞分为空白组和GA组、GA-ICG-Lip组、GA-ICG-Lip-gel组、GA-ICG-Lip+NIR组、GA-ICG-Lip-gel+

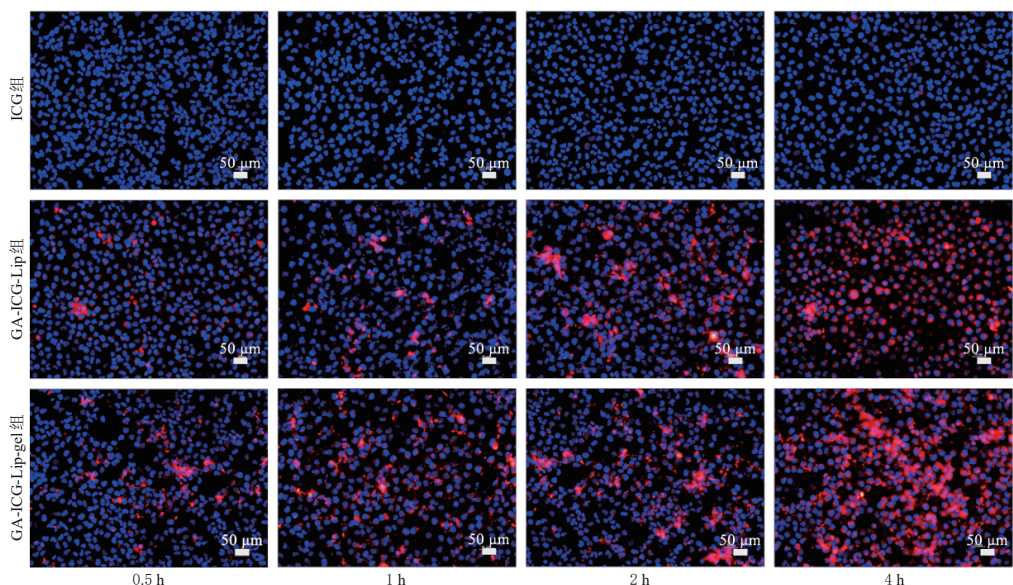


图8 不同时间点各组细胞摄取行为观察显微图

NIR组(GA质量浓度为0.6 μg/mL,根据预实验结果设置),每组设3个复孔;加入相应药液或以NIR(808 nm, 2.5 W/cm²)照射后,继续培养24 h;采用Image J软件测量此时划痕面积($S_{末}$),并计算细胞迁移率[细胞迁移率=($S_{初}-S_{末}$)/ $S_{初} \times 100\%$].结果(图9)显示,与空白组比较,各给药组细胞迁移率均显著降低($P<0.05$);与GA组比较,其余给药组细胞迁移率也均显著降低($P<0.05$);其中GA-ICG-Lip-gel组、GA-ICG-Lip+NIR组和GA-ICG-Lip-gel+NIR组细胞迁移率均小于0,且GA-ICG-Lip-gel+NIR组细胞迁移率最小。这表明GA-ICG-Lip-gel不仅能抑制MCF-7细胞迁移,还可能引起划痕边缘的细胞死亡,且该作用在NIR照射下更明显。

3 讨论

乳腺癌作为临床最常见的恶性肿瘤,现有的传统治疗方案仍存在一定局限性,因此开发新的治疗乳腺癌的药物具有重要意义。智能响应型药物递送系统可实现制剂的时空可控释放,有望在乳腺癌中发挥精准治疗效果。光热疗法可利用光热转换剂将光能转化为高热,从

而消融肿瘤组织^[9]。GA是一种具有多靶点抗肿瘤活性的天然药物^[16-17]。因此,本研究拟将GA与光热转换剂ICG共载于脂质体,并进一步包封于明胶酶响应性温敏水凝胶中,制成GA-ICG-Lip-gel。

在制备工艺上,由于乙醇注入法具有操作简便、有机溶剂残留量低且能形成粒径均一的纳米颗粒等优点^[18],因此本研究选择该法制备脂质体。同时,为了能够准确测定GA的包封率,笔者也对低速离心法、超速离心法和超滤离心法进行了比较,最终确定超滤离心法能最有效地分离游离药物与脂质体,从而确保包封率数据的可靠性。体外释放度测定时,本研究参考文献^[19-20]选择含乙醇的磷酸盐缓冲液作为介质,通常情况下,乙醇比例越高对脂质体膜以及凝胶结构的影响越大,从而影响释放速率;最后,笔者发现当乙醇比例为40%时,该释放介质可降低凝胶的溶胀度,并提高其交联密度。

本研究表征结果显示,所制成的GA-ICG-Lip-gel在室温下呈溶液状态,而在37℃下则迅速形成稳定的凝胶状态;微观条件下GA-ICG-Lip-gel结构致密、表面光

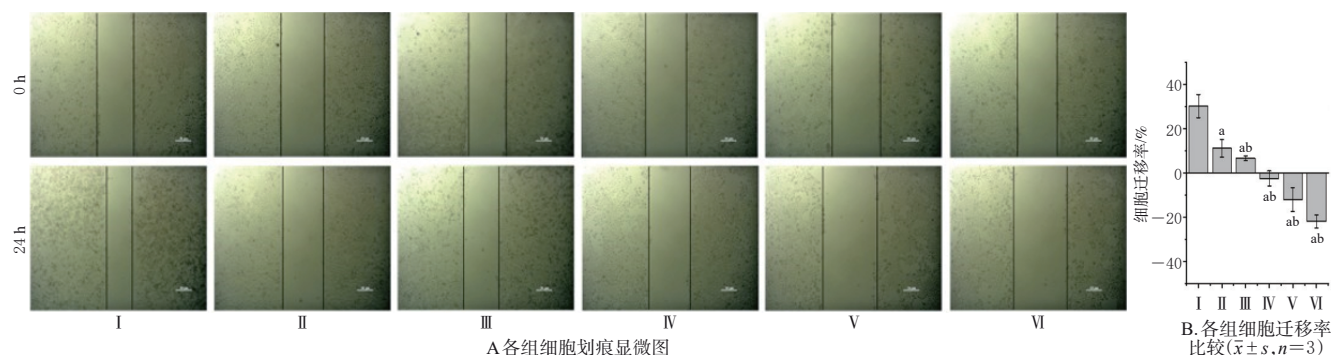


图9 各组细胞迁移观察显微图和迁移率比较

滑、孔隙较小,包封率为 $(96.07 \pm 0.86)\%$ 、载药量为 $(6.28 \pm 1.16)\%$,且具有良好的光热转换性能、光热稳定性和明胶酶响应性。进一步体外抗肿瘤结果显示,MCF-7细胞对GA-ICG-Lip-gel的摄取作用较强;GA-ICG-Lip-gel可显著抑制MCF-7细胞活力和迁移能力,且在NIR照射下,上述抑制作用更明显。

综上所述,本研究成功制备GA-ICG-Lip-gel,该制剂具有良好的光热转换性能和温度/酶双重响应性释药特征,且对乳腺癌细胞的增殖、迁移具有显著的抑制作用。本研究结果可为乳腺癌提供新的治疗策略。然而,GA-ICG-Lip-gel的体内抗肿瘤效果及药动学行为仍有待后续动物实验的深入探究。

参考文献

- [1] KIM J, HARPER A, MCCORMACK V, et al. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries[J]. *Nat Med*, 2025, 31 (4): 1154-1162.
- [2] ADWALL L, FREDRIKSSON I, HULTIN H, et al. Post-operative complications after breast cancer surgery and effect on recurrence and survival: population-based cohort study[J]. *BJS Open*, 2024, 8(6): zrae137.
- [3] OTTO-DOBOS L D, GRANT C V, LAHOUD A A, et al. Chemotherapy-induced gut microbiome disruption, inflammation, and cognitive decline in female patients with breast cancer[J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 120: 208-220.
- [4] XIONG Y, RAO Y, HU J W, et al. Nanoparticle-based photothermal therapy for breast cancer noninvasive treatment[J]. *Adv Mater*, 2025, 37(31): e2305140.
- [5] ATTARIAN F, HATAMIAN G, NOSRATI S, et al. Role of liposomes in chemoimmunotherapy of breast cancer[J]. *J Drug Target*, 2025, 33(6): 887-915.
- [6] QIAO J X, GUO D Y, TIAN H, et al. Research progress of paclitaxel nanodrug delivery system in the treatment of triple-negative breast cancer[J]. *Mater Today Bio*, 2024, 29: 101358.
- [7] MO C X, LUO R, CHEN Y P. Advances in the stimuli-responsive injectable hydrogel for controlled release of drugs[J]. *Macromol Rapid Commun*, 2022, 43 (10): e2200007.
- [8] CHEN J H, YU H Y, ZHENG T T, et al. Recent advancements and perspectives of photoresponsive inorganic nanomaterials for cancer phototherapy and diagnosis[J]. *RSC Adv*, 2025, 15(20): 15450-15475.
- [9] XIE J H, TIAN S Y, ZHANG H N, et al. A novel NQO1 enzyme-responsive polyurethane nanocarrier for redox-triggered intracellular drug release[J]. *Biomacromolecules*, 2023, 24(5): 2225-2236.
- [10] WANG Y Y, LIU S Q, LU K Y, et al. Gambogic acid targets HSP90 to alleviate DSS-induced colitis via inhibiting the necroptosis of intestinal epithelial cells[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1586705.
- [11] FAHMY S A, ELGHANAM R, RASHID G, et al. Emerging tendencies for the nano-delivery of gambogic acid: a promising approach in oncotherapy[J]. *RSC Adv*, 2024, 14 (7): 4666-4691.
- [12] WANG C Y, LAN X Y, ZHU L J, et al. Construction strategy of functionalized liposomes and multidimensional application[J]. *Small*, 2024, 20(25): e2309031.
- [13] SUN W L, HE W F. Application of liposome-based drug delivery systems in tumor treatment[J]. *J Clust Sci*, 2025, 36(4): 118.
- [14] 张梓怡, 沈奇英. 温敏原位凝胶在不同给药途径中的应用进展[J]. *杭州师范大学学报(自然科学版)*, 2025, 24 (6): 561-570.
- [15] 潘罗星, 赵一曼, 袁慧, 等. Box-Behnken响应面法对比GA-BP神经网络优化知母盐炙工艺[J]. *中国药房*, 2025, 36(19): 2399-2403.
- [16] 李溯, 王清华, 达梦婷, 等. 藤黄酸下调蛋白C受体表达杀伤三阴性乳腺癌干细胞的作用机制[J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(23): 4888-4898.
- [17] 涂柯蓉, 杨尚沁, 徐琦琦, 等. 藤黄酸药理作用机制与毒理学研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(24): 6593-6603.
- [18] LUO M F, OOMAH B D, AKOETHEY W, et al. Liposomes as sustainable delivery systems in food, cosmetic, and pharmaceutical applications[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2025, 102(3): 547-568.
- [19] 项舒婷. 藤黄酸-吡啶菁绿无载体靶向纳米体系的构建及其用于成像介导的肿瘤联合治疗研究[D]. 泉州: 华侨大学, 2020.
- [20] PEREIRA A K V, DE MELO BARBOSA R, FERNANDES M A C, et al. Comparative analyses of response surface methodology and artificial neural networks on incorporating tetracaine into liposomes[J]. *Braz J Pharm Sci*, 2020, 56: e17808.

(收稿日期: 2025-10-01 修回日期: 2026-02-10)

(编辑: 唐晓莲)