

聚合物胶束作为药物载体及其在肿瘤靶向方面的研究进展

吴韞韬,张依依(上海交通大学医学院附属新华医院,上海 200092)

[摘要] 聚合物胶束具有粒径小、稳定性高、滞留时间长、良好的生物相容性等特点,这些优良性质使得聚合物胶束作为药物载体具有许多独特的优势。近年来,涌现了许多围绕聚合物胶束设计肿瘤靶向给药系统的报道,包括利用肿瘤的病理学性质,设计被动靶向给药系统和对聚合物胶束进行表面修饰,设计主动靶向给药系统。本文主要综述了聚合物胶束作为肿瘤靶向药物载体的研究进展。

[关键词] 聚合物胶束;嵌段共聚物;肿瘤靶向;药物载体

[中图分类号] R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)02-0086-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.02.002

Advances in polymeric micelles for drug delivery and tumor targeting

WU Yun-tao, ZHANG Yi-yi(Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China)

[Abstract] Some unique inherent properties of polymeric micelles, including small particle size, high stability, long residence time, and good biocompatibility allowed polymeric micelles to be used as drug carriers. In recent years, increasing reports about the polymer micelles had been designed for tumor targeted drug delivery systems, including passive targeted drug delivery using tumor pathological nature and active targeting drug delivery using surface modification of polymer micelles. The research progress of polymeric micelles used as tumor targeted drug carriers were reviewed in this paper.

[Key words] polymeric micelle; block copolymer; tumor targeting; drug carrier

目前,对肿瘤进行药物治疗的主要困难是抗肿瘤药物经全身给药后对肿瘤细胞缺乏选择性,因此,机体内一些快速增殖的细胞也常常受到抗肿瘤药物的抑制,如骨髓细胞^[1]。同时,随着越来越多的具有耐药性的肿瘤的出现,往往需要给予更大剂量的药物,这又增加了对正常细胞的毒性。为了减少对正常细胞的影响,使用最小剂量的治疗药物,研究开发具有肿瘤细胞靶向功能的药物载体就显得尤为迫切。上世纪尤其是最近 20 年,科研工作者针对肿瘤治疗方面进行了大量具有开创性的工作,但成果有限。最近,聚合物胶束(polymeric micelles)被证明能够有效地将药物靶向递送到肿瘤部位,减少在其他正常部位的蓄积,提高了药物的治疗指数。

聚合物胶束作为给药系统最早是在 1992 年由 Kataoka 研究小组提出^[2],目前,该小组研究的一些抗肿瘤药物的聚合物胶束给药系统已经进入临床前或临床研究阶段。聚合物胶束是迄今唯一报道的能够克服多药耐药性的给药系统,它能够通过多种策略达到绝对的靶向给药,如被动靶向,叶酸受体介导,设计成 pH 敏感型和热敏感型等。在美国 FDA

列出的辅料安全性评价中,新型两亲性嵌段共聚物被列为“安全”级别。本文着重综述了聚合物胶束作为肿瘤靶向药物载体的研究进展。

1 聚合物胶束作为药物载体的优点

聚合物胶束由独特的核-壳结构构成。疏水性的内核可以包载难溶性药物,亲水性外壳将药物与水溶性环境隔开可以稳定胶束,同时防止胶束被机体内网状内皮系统排出体外。内核有时可由水溶性聚合物通过化学键与难溶性药物构成^[3],再通过由两个带相反电荷的片段形成聚离子复合物方式形成胶束^[4]。聚合物作为给药载体在难溶性药物、基因、显像剂的应用上颇具吸引力^[5,6]。难溶性药物在治疗方面常存在一些不容忽视的问题,如吸收差、生物利用度低和药物聚集导致并发症如:栓塞^[7],而聚合物胶束能够增容药物达 10~5 000 倍之多。

2 聚合物胶束的组成

除了最常见的两亲性嵌段共聚物外,三嵌段共聚物和接枝共聚物也常有研究。每种共聚物作为给药载体都有其独有的优点,根据目的不同,如控制药物释放速度、延长体内循环时间或修饰靶向功能分子等,可以选择不同的聚合物胶束类型。

[作者简介] 吴韞韬(1979-),女,医学学士,主治医师。E-mail: wytzhh@sina.com.

常用的亲水外壳有 PEG、聚氧乙烯(PEO)、聚丙烯酰胺、聚三亚甲基碳酸^[8]、聚乙烯吡咯烷酮。而有些嵌段共聚物如 PEO-p(L-氨基酸)既可以形成稳定的内核又可以为载药提供功能性基团。PEO-p(L-天冬氨酸)末端的羧基可以进行化学交联用来载药^[9]。

疏水的内核有 p(L-氨基酸)、多元酯、泊洛沙姆系列等。常用的 p(L-氨基酸)包括 p(L-天冬氨酸)和 p(L-谷氨酸)均可以进行末端修饰。常用的多元酯有聚羟乙酸、p(D-乳酸)、p(D,L-乳酸)、丙交酯/乙交酯共聚物、p(ϵ -己内酯)。泊洛沙姆是一种 PEO_{m/2}-b-PPO_n-b-PEO_{m/2} 三嵌段共聚物。聚氧丙烯(PPO)的大小影响共聚物的临界胶束浓度和疏水性单体在胶束内的分布。泊洛沙姆一个显著的特点就是能够抑制 P-gp 的外排作用^[10]。将这些嵌段共聚物进行组合,可以使聚合物胶束达到定时或定位释放的效果^[11]。

3 聚合物胶束的构建

聚合物胶束的形成主要包括两个主要步骤:①合成目标两亲性嵌段共聚物,②通过多种方法使嵌段共聚物形成聚合物胶束(图1)。

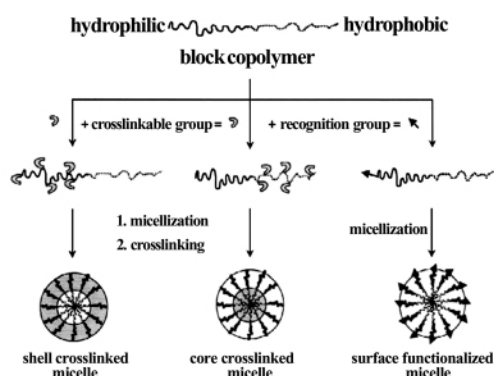


图1 聚合物胶束的组成及形成过程

3.1 两亲性嵌段共聚物的合成 两亲性共聚物可以是接枝共聚物或者嵌段共聚物,嵌段共聚物可以是二嵌段或者三嵌段。三嵌段共聚物可以由两种片段聚合而成(ABA)或者由三种片段聚合而成(ABC)。将亲水性片段与疏水性片段通过化学方法耦合可以制备嵌段共聚物;在疏水性片段接枝在亲水性片段上形成接枝共聚物。将不同类型的聚合物耦合能够得到不同功能的聚合物胶束:pH敏感型^[12]、温度敏感型^[13],在亲水性片段的末端连接各种功能基团可以达到受体敏感^[14]。亲水性片段和疏水性片段的长度影响聚合物在介质中的形成。亲

水性片段越长,聚合物在介质中越易以单体的形式存在;疏水性片段越长,聚合物越易形成胶束结构^[15]。合成嵌段共聚物常见的方法有:开环聚合、自由基聚合、分步缩合、改良的纳米沉淀法和溶剂聚合合法。

3.2 聚合物胶束的制备及载药方法

3.2.1 透析法 首先将药物和嵌段共聚物溶于可与水互溶的有机溶剂中,如二甲基甲酰胺,然后在不断地搅拌下将少量水加入到有机溶剂中。将装有上述混合物的透析袋再置于大量水中,将有机溶剂透析除去^[16]。

3.2.2 O/W 溶剂挥发法 将药物和嵌段共聚物溶于与水不相容的有机溶剂,如四氢呋喃、氯仿或氯仿与乙醇的混合物。再将有机溶剂溶液缓慢加入激烈搅拌的蒸馏水中,形成水包油型乳剂,嵌段共聚物经过重排形成聚合物胶束。上述乳剂敞口放置并持续搅拌使有机溶剂挥发。

3.2.3 固体分散法 药物和嵌段共聚物溶于有机溶剂,经减压挥发除去有机溶剂后得到固体聚合物。将少量水加入预热的固体聚合物得到载药聚合物胶束^[17]。

3.2.4 微相分离法 药物和嵌段共聚物溶于有机溶剂,如四氢呋喃,在持续搅拌下将溶剂滴入蒸馏水中,减压挥发除去有机溶剂。

4 聚合物胶束中的药物释放

聚合物胶束中包载药物可以通过化学交联或者物理包埋方法实现,药物的释放行为与胶束的载药方法密切相关。若药物通过化学交联与胶束连接,药物的释放随着胶束的降解或溶蚀而进行;若药物通过物理方法包埋在胶束内,则药物主药通过扩散释放。此外,药物的油水分配系数、载药量、疏水性嵌段的长度及内核形成交联剂的加入与否等因素也影响药物的释放行为。在多柔比星聚合物胶束内核中加入京尼平作为交联剂后,药物释放显著减慢^[18]。

5 聚合物胶束在体内的命运

目前使用的大部分聚合物都具有生物可降解性和生物相容性,可以被顺利从体内排出,不会造成机体不适。载药聚合物胶束应该在排出机体前到肿瘤部位蓄积,在肿瘤部位释药后顺利排出体外,整个体内过程对机体无不良反应。聚合物胶束要维持在体内循环,应该大于 42~50 kDa^[19],分子量大于 70 000 g/mol^[20]。给药后,胶束-蛋白或药物-蛋白间的相互作用会影响药物的释放速率,如载有疏水性药物玫瑰树碱的聚合物胶束与

胎牛血清结合后,释放速率显著增加。

6 聚合物胶束性质的一般鉴定

6.1 聚合物胶束的临界胶束浓度(CMC) 常用染料溶解法测定聚合物胶束的 CMC。嵌二萘^[21]是一种非极性的多环芳香分子,常用作荧光探针,在胶束形成的过程中它优先分布在疏水性内核中,同时伴随着其荧光性质的变化,如发射光谱的震动变迁和激发光谱的红移^[22]。聚合物胶束的 CMC 可以通过外推一系列聚合物浓度的吸光值的曲线得到。

6.2 胶束的结构 聚合物胶束的结构信息包括:粒径、粒径分布、显微结构、内核结构、胶束聚集数和胶束密度等。胶束的粒径和粒径分布可以通过静态或动态光散射技术检测。Z 电位代表了胶束粒子表面电荷的变化情况。胶束粒子的表面形态可以通过透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)、原子力显微镜或共焦显微镜等显微技术记录。等电点聚焦和二维聚丙烯凝胶电泳技术能够根据胶束的表面电荷和粒径实现胶束分离。胶束内的结晶情况可以通过示差扫描量热法(DSC)反应。核磁共振(NMR)能够说明构成胶束的嵌段共聚物的结构和组成情况。体积排阻色谱法和凝胶渗透层析法(GPC)能够根据胶束的大小将其进行分离^[23]。

6.3 体外药物释放 聚合物胶束中药物的体外释放研究一般是将少量载有药物的胶束溶液置于透析袋,将透析袋置 37℃、磁力搅拌速度为 100 r/min 的形成漏槽条件的磷酸盐缓冲液(PBS pH 7.4)中,记录药物释放的含量。而关于难溶性药物紫杉醇胶束体外释放研究中使用了一种新的实验方法^[24],该实验中使用水杨酸钠作为增溶剂,水杨酸钠能够增溶紫杉醇,增溶后的相同体积内紫杉醇的含量能达到其在胶束内载药总量的 10 倍,轻松达到漏槽条件。助溶剂为难溶性药物的体外释放研究提供了一个简单的方法。

6.4 体外细胞毒性评价 毒性物质能够影响细胞普遍具备的基本功能,体外细胞毒性实验的价值就是预测药物对细胞的破坏情况。通过评价大量药物的潜在毒性,体外细胞毒性实验近年来得到了极大的发展。

7 聚合物胶束的靶向机理

7.1 被动靶向 早在 20 世纪 80 年代, Maeda 等^[25]就证明可以利用实体瘤的 EPR 效应,将聚合物胶束被动靶向到肿瘤部位。对实体瘤的病理学、药理学及生物化学的研究表明,实体瘤普遍具有丰富的血管、血管结构不完整、血管渗透作用被加强和

缺少淋巴回流等即 EPR。大量的研究表明利用 EPR 效应能够将大分子和纳米粒蓄积在实体瘤。大部分人体肿瘤的有效孔径约为 200 ~ 600 nm,可以有效利用 EPR 效应实验被动靶向。需要说明的是,在肿瘤的生长过程中其血管渗透性的变化,肿瘤的生长部位和胶束材料的理化性质均影响胶束向肿瘤部位渗透^[26](图 2)。

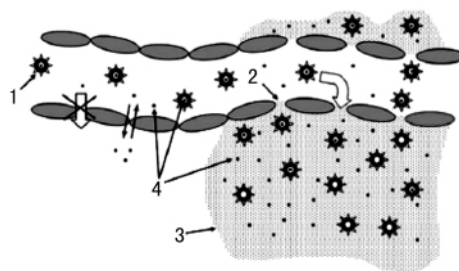


图 2 实体瘤的 EPR 效应

长循环聚合物胶束(1)穿过病理状态下的血管(2)到达肿瘤实质(3),在肿瘤内部释放游离药物(4),从而提高肿瘤局部的药物浓度。

7.2 主动靶向

7.2.1 免疫聚合物胶束 利用靶点部位与其他部位的差异和抗原-抗体之间的特殊作用,在胶束表面吸附特殊的单克隆抗体,能够实现主动靶向。胶束表面吸附抗体之后能够与抗原特异地结合。最近,有研究表明,具有核小体特异性的非致病性单克隆抗细胞核自身抗体能够识别许多肿瘤细胞表面,但不能识别正常细胞^[27]。鉴于能够识别许多肿瘤细胞,这些抗体可以用来作靶向药物或者药物的载体到达肿瘤。有报道,将略溶药物紫杉醇载入具有肿瘤靶向的免疫胶束,静脉给予种有刘易斯肺癌的小鼠后,发现与游离药物和没有修饰靶向基团的胶束相比,免疫胶束在肿瘤部位的蓄积显著增加,体内研究表明肿瘤的生长得到明显抑制。

7.2.2 叶酸介导的胶束 许多器官,如结肠、肺、前列腺、卵巢、乳腺和脑等上皮肿瘤的叶酸受体呈高表达^[28]。因此,将叶酸与药物载体合理连接能够实现肿瘤靶向,甚至可以利用受体介导的胞吞作用,实现药物的肿瘤细胞内靶向。此外发现,叶酸共轭体能够逃脱癌症细胞的多药外排泵。叶酸的这些性质能够有效地增加癌症细胞内药物摄取,避免溶酶体酶对药物的降解。载多柔比星的叶酸-PEG-b-p(L-组氨酸)和 PEO-b-p(L-乳酸)混合共聚物具有 pH 敏感性^[29]。体外实验结果表明,该胶束能够有效地将多柔比星载入肿瘤细胞,表明将兼具靶向功能和 pH 敏感的性质结合起来能够更有效地治疗实体瘤。

7.2.3 其他主动靶向策略 与恶性肿瘤的恶性程度相关,转铁蛋白受体在肿瘤细胞高表达,因此转铁蛋白也是设计肿瘤组织靶向制剂的一种非常合适的配体。同样,促黄激素释放激素在卵巢肿瘤和其他肿瘤的表达水平要远高于正常组织^[30]。表皮生长因子在乳腺癌细胞高表达,且其具有细胞核转运的特点,常用来设计乳腺癌靶向制剂; α_2 -糖蛋白常用来设计成脑胶质细胞靶向制剂^[31]。此外还有根据肿瘤pH环境设计pH敏感型聚合物胶束,使胶束在肿瘤部位释药;通过肿瘤部位局部加热,使温度敏感型聚合物胶束定位释药;在肿瘤部位进行局部超声,使肿瘤细胞膜分解的同时也使聚合物胶束加速释药,增加药物在肿瘤部位的摄取^[32,33]。研究表明,当肿瘤生长大于 2 mm^3 后,由于其血管生成机制被激发(比如产生大量的新生血管),肿瘤进入快速生长通道,因此针对肿瘤的血管生成机制是肿瘤治疗的一个重要方向^[34]。

8 展望

在过去的几十年中,科学工作者不断尝试开发一种能够将治疗药物靶向递送到病变细胞而对健康的细胞无副作用的理想药物传递系统,聚合物胶束是其中最受关注的纳米载药系统之一。由于大多数抗肿瘤药物水溶性差,而聚合物胶束特备适合包载难溶性药物并将其靶向递送到肿瘤。无论是利用聚合物胶束的主动靶向还是被动靶向,均能够增加抗肿瘤药物的治疗指数。目前,一些有关聚合物胶束载药的制剂已经成功开发,一些正处于临床前研究阶段,这更需要科研工作者将实验中所发现的成果利用到临床实践中,以减少肿瘤病人的死亡率,增加肿瘤化疗的希望。

【参考文献】

- [1] Wang L, Zeng R, Li C, *et al.* Self-assembled polypeptide-block-poly(vinylpyrrolidone) as prospective drug-delivery systems[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 74: 284.
- [2] Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, *et al.* Introduction of cisplatin into polymeric micelles[J]. *J Control Release*, 1996, 39: 351.
- [3] Shen Y, Jiasheng T. Synthesis and characterization of low molecular weight hyaluronic acid-based cationic micelles for efficient siRNA delivery[J]. *Carbohydrate Polym*, 2009, 77: 95.
- [4] Rijcken CJ, Snel CJ, Schiffelers RM, *et al.* Hydrolysable core-crosslinked thermosensitive polymeric micelles: synthesis, characterisation and in vivo studies[J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 5581.
- [5] Otsuka H, Nagasaki Y, Kataoka K. PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55: 403.
- [6] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46: 3.
- [7] Zhang Z, Grijpma DW, Feijen J. Thermo-sensitive transition of monomethoxy poly(ethylene glycol)-block-poly(trimethylene carbonate) films to micellar-like nanoparticles[J]. *J Control Release*, 2006, 112: 57.
- [8] Li Y, Kwon GS. Methotrexate esters of poly(ethyleneoxide)-block-poly(2-hydroxyethyl-L-aspartamide). I Effects of the level of methotrexate conjugation on the stability of micelles and on drug release[J]. *Pharm Res*, 2000, 17: 607.
- [9] Kozlov MY, Melik-Nubarov NS, Batrakova EV, *et al.* Relationship between Pluronic block copolymer structure, critical micellization concentration and partitioning coefficients of low molecular mass solutes[J]. *Macromolecules*, 2000, 33: 3305.
- [10] Lavasanifar A, Samuel J, Kwon GS. The effect of alkyl core structure on micellar properties of poly(ethylene oxide)-block-poly(L-aspartamide) derivatives[J]. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2001, 22: 115.
- [11] Lee ES, Na K, Bae YH. Polymeric micelles for tumor pH and folate mediated targeting[J]. *J Control Release*, 2003, 91: 103.
- [12] Lee ES, Na K, Bae YH, *et al.* Poly(L-histidine)-PEG block copolymer micelles and pH-induced destabilization[J]. *J Control Release*, 2003, 90: 363.
- [13] Rejinold NS, Muthunayanan M, Divyarami VV, *et al.* Curcumin-loaded biocompatible thermoresponsive polymeric nanoparticles for cancer drug delivery[J]. *J Colloid Interface Sci*, 2011, 360: 39.
- [14] Rejinold NS, Sreerekha PR, Chennazhi KP, *et al.* Biocompatible, biodegradable and thermo-sensitive chitosan-g-poly(N-isopropylacrylamide) nanocarrier for curcumin drug delivery[J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49: 161.
- [15] Kim JH, Emoto K, Iijima M, *et al.* Core-stabilized polymeric micelle as potential drug carrier: increased solubilization of taxol[J]. *Polym Adv Technol*, 1999, 10: 647.
- [16] Butsele KV, Sibreta P, Fustin CA, *et al.* Synthesis and pH-dependent micellization of diblock copolymer mixtures[J]. *J Colloid Interf Sci*, 2009, 329: 235.
- [17] Patil YB, Toti US, Khadair A, *et al.* Single-step surface functionalization of polymeric nanoparticles for targeted drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2009, 30: 859.
- [18] Taillefer J, Jones MC, Brasseur N, *et al.* Preparation and characterization of pH-responsive polymeric micelles for the delivery of photosensitizing anticancer drugs[J]. *J Pharm Sci*, 2000, 89: 52.
- [19] Der ZL, Jui HH, Xian CF, *et al.* Synthesis, characterization and drug delivery behaviors of new PCP polymeric micelles[J]. *Carbohydrate Polym*, 2007, 68: 544.
- [20] Adams ML, Lavasanifar A, Kwon GS. Amphiphilic block copolymers for drug delivery[J]. *J Pharm Sci*, 2003, 92: 1343.
- [21] Yunhai L, Xiaohong C, Mingbiao L, *et al.* Self-assembled micellar nanoparticles of a novel star copolymer for thermo and pH dual-responsive drug release[J]. *J Colloid Interf Sci*, 2009, 329: 244.

入线性回归方程计算多巴胺含量,并求算其相当于标示量的百分比。3批样品中盐酸多巴胺的含量分别为(104.25 ± 1.06)%、(102.43 ± 1.08)%、(102.24 ± 2.73)% ,平均含量为标示量的(102.97 ± 1.11)% ,均在标示量的93.0% ~ 107.0% ,符合2010版《中华人民共和国药典》盐酸多巴胺注射液项下要求^[3]。

3 讨论

盐酸多巴胺的含量测定方法有高氯酸滴定法、分光光度法^[1]、高效液相色谱法^[3,4]等,其注射液的含量测定在2010版中国药典中采用高效液相色谱法^[3],以紫外检测为手段,灵敏度低,需较大进样量,易造成色谱柱容量过载。鉴于多巴胺是具有电活性的酚类物质,本研究根据文献报道^[5]选用ECD为检测手段,灵敏度显著提高,足以满足常规检测需要。

多巴胺为极性化合物,在非极性色谱柱上保留较弱。在酸性流动相条件中加入离子对试剂后,多巴胺作为一种有机胺类物质,能与庚烷磺酸钠形成离子对,在固定相上保留增强,从而实现有

效分离。研究过程中还考察了工作电位对灵敏度的影响,发现在酸性条件下以工作电位+0.65V处灵敏度大、峰形佳,因此本研究采用+0.65V为工作电位。

经方法学研究表明,本研究所建立的HPLC-ECD方法准确快速、灵敏度高、重现性好且不受预灌装注射器的材质干扰,能用于盐酸多巴胺预灌装注射液的含量测定。

【参考文献】

- [1] 潘自红,贺国旭,胡小明,等. 分光光度法测定盐酸多巴胺的含量[J]. 分析试验室, 2011, 30(11): 89.
- [2] Nishiyama J, Suzuki T, Murata T, et al. A questionnaire survey on operability of syringe pumps for prefilled syringes [J]. Tokai J Exp Clin Med, 2010, 35(3): 95.
- [3] 中国药典2010版. 二部[S]. 2010: 688.
- [4] 吴燕琼,梁洁雯. HPLC测定盐酸多巴胺注射液的含量[J]. 广东药学, 2005, 15(3): 15.
- [5] 宋才勇,余莉,李雪艳,等. 微透析活体取样与高效液相色谱-电化学检测法联用测定帕金森大鼠脑中神经递质[J]. 分析试验室, 2011, 30(8): 80.

[收稿日期]2012-05-08

[修回日期]2012-07-24

(上接第89页)

- [22] Wilhelm M, Zhao CL, Wang YC, et al. Poly(styrene-ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: a fluorescence probe study[J]. Macromolecules, 1991, 24: 1033.
- [23] Chen Y, Sone M, Fuchise K, et al. Structural effect of a series of block copolymers consisting of poly(Nisopropylacrylamide and poly(N-hydroxyethylacrylamide) on thermoresponsive behavior [J]. React Funct Polym, 2009, 69: 463.
- [24] Cho YW, Lee J, Lee SC, et al. Hydrotropic agents for study of in vitro paclitaxel release from polymeric micelles [J]. J Control Release, 2004, 97: 249.
- [25] Maeda H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature, the key role of tumor selective macromolecular drug targeting [J]. Adv Enzyme Regul, 2001, 41: 189.
- [26] Acharya S, Sahoo SK. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63: 170.
- [27] Torchillin VP, Iakubov LZ, Estrov Z. Therapeutic potential of antinuclear autoantibodies in cancer [J]. Cancer Ther, 2003, 1: 179.
- [28] Knock E, Deng L, Krupenko N, et al. Susceptibility to intestinal tumorigenesis in folate-deficient mice may be influenced by variation in one-carbon metabolism and DNA repair [J]. J Nutr Biochem, 2011, 22: 1022.

- [29] Hagelucken A, Grunbaum L, Numberg B, et al. Lipophilic beta-adrenoceptor antagonist and local anaesthetics are effective direct activators of G-proteins [J]. Biochem Pharmacol, 1994, 47: 1789.
- [30] Dharap SS, Qiu B, Williams GC, et al. Molecular targeting of drug delivery systems to ovarian cancers by BH3 and LHRH peptides [J]. J Control Release, 2003, 91: 61.
- [31] Lee AL, Yong W, Cheng HY, et al. The co-delivery of paclitaxel and Herceptin using cationic micellar nanoparticles [J]. Biomaterials, 2009, 30: 919.
- [32] Rijcken CJ, Snel CJ, Schiffelers RM, et al. Hydrolysable core-crosslinked thermosensitive polymeric micelles: synthesis, characterisation and in vivo studies [J]. Biomaterials, 2007, 28: 5581.
- [33] Mannaris C, Averkiou MA. Investigation of microbubble response to long pulses used in ultrasound-enhanced drug delivery [J]. Ultrasound Med Biol, 2012, 38: 681.
- [34] Wei A, Zhou D, Ruan J, et al. Anti-tumor and anti-angiogenic effects of Macrothelypteris viridifrons and its constituents by HPLC-DAD/MS analysis [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139: 373.

[收稿日期]2012-05-05

[修回日期]2012-10-09