

· 基础研究 ·

多西紫杉醇壳聚糖纳米粒制备及其特性研究

梁恒伦¹, 童健^{1△}, 李晶², 张福伟¹, 阮宝琴¹

(南方医科大学附属珠江医院:1. 胸心外科;2. 肿瘤中心, 广州 510282)

摘要:目的 制备负载多西紫杉醇(DTX)的壳聚糖纳米粒(DTX-CTNPs),并研究其体外释药性能及细胞毒性。方法 采用离子交联法制备 DTX-CTNPs,扫描电镜观察其形态学特征,激光粒度分析仪测定纳米粒粒径大小及分布,在磷酸盐缓冲液(PBS)中对载药纳米粒进行体外释药试验。四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测 DTX-CTNPs 对人肺癌细胞株 A549 的增殖抑制以评估其细胞毒性及抗癌效应。结果 壳聚糖和三聚磷酸钠投药比为 5.3 : 1.0 时制备的壳聚糖纳米粒(CTNPs)形态规则,粒径分布较为均匀,平均粒径为 175 nm,载药率与包封率分别为(22.4±2.7)%、(59.2±8.6)%。对 A549 细胞株的体外增殖抑制作用具有浓度依赖性,半数抑制浓度(IC₅₀)为(26.87±1.35)μg/mL,而同一实验体系下的普通注射用 DTX 的 IC₅₀ 则为(5.51±0.37)μg/mL($P < 0.001$),证明载药纳米粒的细胞毒性远低于普通注射用 DTX。结论 DTX-CTNPs 具有一定的控释性能,能明显降低普通注射用 DTX 的细胞毒性,可以成为一种理想的化疗药载体。

关键词:壳聚糖;纳米球;体外细胞毒性;多西紫杉醇

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.31.014

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)31-3154-03

Preparation and evaluation of Docetaxel-loaded chitosan nanoparticles in vitro

Liang Henglun¹, Tong Jian^{1△}, Li Jing², Zhang Fuwei¹, Ruan Baoqin¹

(1. Department of Cardiothoracic Surgery; 2. Oncology Center, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China)

Abstract: Objective To prepare docetaxel-loaded chitosan nanoparticles(DTX-CTNPs) by optimizing experiment conditions. And the drug-loaded NPs were evaluated for sustain release and in vitro cytotoxicity. **Methods** DTX-CSNPs were prepared by ionic gelation of chitosan with tripolyphosphate anions (TPP). The NPs were characterized for their shape by scanning electron microscopy. The particle size, size distribution and polydispersity index were assessed by laser scattering. The drug loading, incorporation efficiency and cumulative release rates of the DTX-CTNPs in vitro were analyzed by ultraviolet spectrophotometry. The DTX-CTNPs were evaluated for in vitro cytotoxicity by MTT assay using A549 cell lines. **Results** The DTX-CTNPs(CTS/TPP 5.3 : 1.0) with good shape and narrow size distribution were prepared. The average diameter was 175 nm. The rates of drug loading and encapsulation were (22.4±2.7)% and (59.2±8.6)%, respectively. And the DTX-CTNPs showed a comparable antitumor efficacy in vitro while strongly reduced the anticancer drug toxicity compared to free DTX (DTX for injection). **Conclusion** Together our results suggests that the anticancer drug loaded nanoparticles are a promising nano-sized drug vector for cancer therapy.

Key words: chitosan; nanospheres; in vitro cytotoxicity; docetaxel

多西紫杉醇(docetaxel, DTX)由浆果紫杉醇针叶中提取经半合成所得,白色粉状物,相对分子质量为 861.9。其抗肿瘤机制与紫杉醇相同,通过稳定微管从而抑制肿瘤细胞的有丝分裂。而从目前相关研究来看,多西紫杉醇的抗肿瘤范畴与紫杉醇并不一致。由于多西紫杉醇以 t-丁氧羰基取代了紫杉醇的苯甲酸基团,故其水溶性略大于紫杉醇^[1-3]。目前临床上所用多西紫杉醇多为注射剂型。此剂型是将药物溶于增溶剂——聚山梨酸酯 80 中,给药时用 13% 乙醇水溶液稀释至 10 g/L,然后用 5% 葡萄糖或 0.9% 氯化钠进一步稀释。聚山梨酸酯 80 是一种亲水性的表面活性剂,具有很强的破裂细胞膜的作用而具刺激性、溶血性,促组胺释放^[4-6]。故此剂型可引起严重过敏反应及正常组织的细胞毒性,从而限制了 DTX 的应用。寻找性能优良而安全的药物输送系统(drug carry system),消除传统方法所带来的不良反应为当前研究热点,其中包括脂质体、脂肪乳剂、磁微球、聚合物胶束等^[7-10]。

壳聚糖(chitosan, CTS)是一种天然的高分子阳离子聚合物,由于其良好的生物可降解性、对生物黏膜较强的粘附性、无毒性及组织相容性,成为生物医用材料及基因、药物载体等领域研究热点,尤其在缓释、靶向给药的应用中得到广泛关

注^[10-13]。本实验以 CTS 为基质,与多聚磷酸钠(TPP)通过离子交联法制备负载多西紫杉醇的壳聚糖纳米粒(docetaxel-loaded chitosan nanoparticles, DTX-CTNPs),并研究其体外释药性及细胞毒性。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 多西紫杉醇(深圳万乐药业)、多西紫杉醇原料药(纯度大于或等于 99.0%,美伦医药)、CTS(脱乙酰度大于 88%,Sigma 公司)、TPP(上海国药)、四甲基偶氮唑盐(MTT, Sigma 公司)、无水二甲亚砜(DMSO, Sigma 公司)、胰蛋白酶(Sigma 公司)、新生牛血清(Gibco 公司),其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备 79-1 磁力加热搅拌器(国产)、Uvikon923 型紫外分光光度计(Bio-Tek 公司)、马尔文 Zetasizer Nano ZS90 纳米粒度仪(Malvern 公司)、低温冷冻干燥机(Labconco 公司)、酶标仪(Leica 公司)、水浴恒温振荡器(国产)。

1.3 方法

1.3.1 壳聚糖纳米粒(CTNPs)的制备 根据 Calvo 等^[14]于 1997 年所报告的方法略加改动,精密称取 8.0 mg CTS 溶于 1.0% 的醋酸溶液,磁力搅拌至完全溶解,以 1.0 mol/L 的氢氧

化钠(NaOH)调节 pH 至 4.0,溶液最终含 CTS 2.0 mg/mL。称取适量 TPP 溶于双蒸水中,配成 1.0 mg/mL TPP 溶液。CTS 溶液在持续磁力搅拌作用下,用 7 号针头注射器将 1.0 mg/mL TPP 溶液缓慢滴入 CTS 溶液中,观察反应体系外观。取各反应体系溶液适量,加双蒸水稀释后于马尔文 Zetasizer Nano ZS90 纳米粒度仪测定平均粒径及粒径分布范围,剩余冷冻干燥,即得空白壳聚糖纳米粒。

1.3.2 DTX-CTNPs 的制备 将 5.0 mg DTX 溶于甲醇 5.0 mL,然后加入 4.0 mL 的 CTS 醋酸溶液中(2.0 mg/mL),持续磁力搅拌作用下,用 7 号针头注射器缓慢将 1 mg/mL TPP 溶液 1.5 mL 滴入混合液中,室温下继续磁力搅拌 30 min。所得悬液在 4 °C,10 000 r/min 条件下离心 30 min,弃上清,沉淀物倒于透析袋中,于磷酸盐缓冲液(PBS)溶液中(pH7.4)透析 3 次,每次 10 min,最后冷冻干燥,于 4 °C 储存。

1.3.3 CTNPs 形态学检测 将干燥的载药纳米粒均匀散在样品平台上,用导电胶固定后喷金,电压加至 5 kV,扫描电镜观察其形态学特征及大小。

1.3.4 纳米粒中 DTX 载药率及包封率测定 采用紫外分光光度法测定载药纳米粒溶液中 DTX 的含量。检测波长 210 nm(DTX 在 210 nm 波长处有特征性吸收峰)。精密称取所制作 DTX-CTNPs 1.0 mg,用 1.0 mL 1.0% 盐酸(HCl)破坏纳米粒,加甲醇定容至 20.0 mL,以甲醇为空白对照测定其在 210 nm 处的吸光度(A)值。以 DTX 甲醇溶液建立标准曲线,按以下公式计算纳米粒的载药率(LC)及包封率(EE)。

$$LC = \text{载药纳米粒的药物量} / \text{载药纳米粒的总质量} \times 100\%$$

$$EE = \text{载药纳米粒的药物量} / \text{总投药量} \times 100\%$$

1.3.5 体外释药试验 精密称取载药纳米粒各 1.0 mg,混悬于 2.0 mL PBS 中,然后置于透析袋中,将透析袋置于大烧杯中,加 20.0 mL PBS,最后将烧杯置于恒温振荡器(37.0 °C,频率 100 次/min)中。于不同时间点取透析袋外 PBS 溶液 1.0 mL,于 210 nm 处测其吸光度值,同时加入等量新鲜 PBS 溶液。根据标准曲线其 DTX 含量,按照下列公式计算载药 DTX 在各个时间点的累积释药率:

$$\text{多西紫杉醇的累积释药率 } Q(\%) = \left[(V_0 \times C_t + V \times \sum_{n=1}^{t-1} \frac{C_n}{C}) / (W \times X) \right] \times 100\%$$

C_t: 释放各时间点测得释放介质中的多西紫杉醇的浓度(μg/mL);W: 投入的载药纳米粒的总重量(μg);V₀: 释放介质的总体积;V: 每次取样的体积;X: 纳米粒载药量(%)。

1.3.6 细胞增殖抑制实验 对数生长期 A549 细胞以每孔 4 × 10³ 个细胞接种于 96 孔板,恒温孵箱中培养 24 h 后加药,分别加入浓度为 1、4、16、64 μg/mL 普通注射用 DTX、CTNPs、DTX-CTNPs,每组 4 个复孔。加药后培养 48 h,MTT 法检测细胞存活率,并分别用下列公式分别计算细胞抑制率与半数抑制浓度(IC₅₀)。细胞抑制率(%) = [1 - (实验组光密度值 - 调零孔光密度值) / (对照组光密度值 - 调零孔光密度值)] × 100%; IC₅₀ = lg⁻¹[Xm - i(ΣP - 0.5)]。式中:Xm 为设计的最大浓度的对数值;i 为各浓度倍比浓度的对数值;ΣP 为各浓度组生长抑制率之和;0.5 为经验常数。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件包进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差别用单向分类方差分析,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 激光衍射粒度仪测定纳米粒粒径及分布 随着滴加的 TPP 量的增加,溶液逐渐呈 3 种表现,即澄清、乳光、沉淀。当

CTS/TPP 质量比为 3 : 1 ~ 6 : 1 时,溶液呈乳光色,而其粒径随着 CTS/TPP 比值的减小而加大。当 CTS/TPP 为 6 : 1 时,CTNPs 的平均粒径为 116.3 nm,多分散系数(PDI)为 0.150;当 CTS/TPP 为 4 : 1 时,CTNPs 粒径分布出现双峰,93.8% 粒子的平均粒径为 368.1 nm,6.2% 粒子平均粒径为 1 375.0 nm, PDI 为 0.406;当 CTS/TPP 为 3 : 1 时,混悬液中形成肉眼可见细颗粒沉淀(粒径大于 1 000 nm)。本次实验取 CTS/TPP 为 5.3 : 1.0 制作 CTNPs 与 DTX-CTNPs,见图 1,其平均粒径分别为 175 nm 与 200 nm, PDI 分别为 0.088 与 0.270。

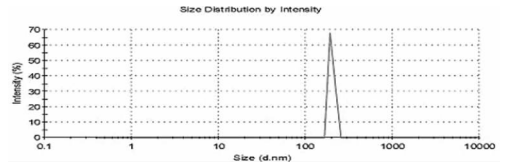


图 1 CTS/TPP 质量比为 5.3 : 1.0 载药纳米粒的粒径分布(溶解于双蒸水中)

2.2 壳聚糖纳米粒的形态学特征 扫描电镜下可见纳米粒部分变形、粘连,见图 2。

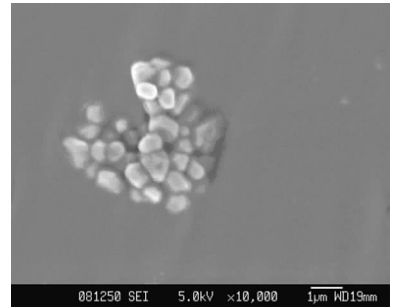


图 2 扫描电镜下载药纳米粒的形态(×10 000)

2.3 DTX 壳聚糖纳米粒的载药率及包封率 DTX 在 0.5 ~ 20.0 μg/mL 范围内与吸光度呈良好的线性关系,标准曲线为 A = 0.067 + 0.26X (r² = 0.997)。载药率与包封率分别为 (22.4 ± 2.7)%、(59.2 ± 8.6)%。

2.4 外释药试验 载药纳米粒体外释药曲线可分为突释和缓释部分。突释部分曲线陡直,药物释放迅速,24 h 内累计释药量达到(37.1 ± 2.4)%,48 h 达到(51.4 ± 3.9)%。其后曲线变平缓,7 d 内累计释药量达到(82.3 ± 4.3)%,表明载药纳米粒具有一定的缓释性能,见图 3。

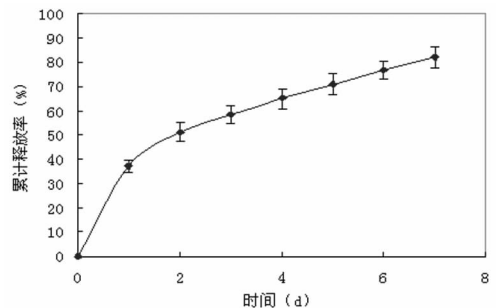


图 3 载药微球在 PBS 溶液中累计释放曲线(pH 7.4)

2.5 普通注射用 DTX、CTNPs 及 DTX-CTNPs 对 A549 肺癌细胞株的增殖抑制作用 普通注射用 DTX 表现出非常高的细胞毒性,在浓度低至 1.0 μg/mL 时对 A549 细胞就已经有 (24.23 ± 1.49)% 的抑制率。DTX-CTNPs 随着浓度的增加,抑制率几乎呈直线上升,浓度在 64.0 μg/mL 时,抑制率达 (71.50 ± 1.56)%,但仍远远低于普通注射用 DTX 的 (90.10 ±

表 1 普通注射用 DTX, CTNPs 及 DTX-CTNPs 对 A549 细胞的生长抑制率及各药物的半数抑制浓度 ($\bar{x} \pm s$)

药物	药物浓度 (%)				IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	16.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	64.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
CTNPs	0.39 \pm 0.26	2.56 \pm 1.06	6.12 \pm 2.21	12.69 \pm 2.28	514.53 \pm 37.55
DTX-CTNPs	3.06 \pm 0.88	9.32 \pm 1.48	28.76 \pm 2.90	71.50 \pm 1.56	26.87 \pm 1.35*
DTX	24.23 \pm 1.49	45.00 \pm 2.62	67.35 \pm 2.43	90.10 \pm 1.95	5.51 \pm 0.37

* $P < 0.01$, 与 DTX 和 CTNPs 比较。

1.95) %。DTX-CTNPs IC₅₀ 为普通注射用 DTX 的 4 倍多 ($P < 0.05$)。由此证明壳聚糖纳米粒作为多西紫杉醇的药物输送载体可明显降低普通注射用多西紫杉醇的细胞毒性, 同时保留其的抗肿瘤特性, 见图 4、表 1。

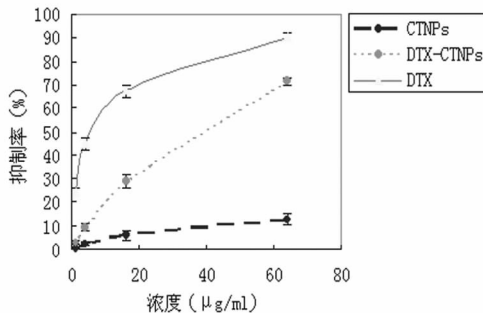


图 4 普通注射用 DTX, CTNPs 及 DTX-CTNPs 与 A549 细胞共培养 48 h 后细胞的抑制率变化曲线

3 讨论

CTS 分子链上带有大量氨基基团, 溶于弱酸后质子化而带有大量正电荷, 与 TPP 的阴离子发生交联反应, 即多分子 CTS 围绕 TPP 聚集而成聚合物^[15], CTS 与 TPP 的质量比是其粒径大小的主要因素, 通过调整其比例制成各种粒径的纳米粒。将所要负载的药物以溶液状态加入 CTS 醋酸溶液或 TPP 水溶液中, 即在纳米粒形成的过程中将药物包裹在纳米粒内或吸附在纳米微球表面。

本实验 CTS/TPP 质量比为 5.3 : 1.0, 载药纳米粒的平均粒径为 200 nm, 载药率与包封率分别为 (22.4 \pm 2.7)% 和 (59.2 \pm 8.6)%。体外释药试验证明载药纳米粒具有一定的控释能力, 但 48 h 内突释累计 (51.4 \pm 3.9)%, 可能归因于部分药物与 CTNPs 的相互作用力较弱, 或紧紧黏附 CTNPs 的表面。48 h 后曲线变平缓, 这部分药物牢牢结合在 CTNPs 内部, 因 CTNPs 的溶蚀而缓慢释放^[16]。

DTX 因其较强的抗癌特性, 而作为非小细胞肺癌、卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌等的重要化疗药^[17-21]。但其主要不足在于不良反应大^[22]。这主要归因于注射用 DTX 缺乏选择性, 水溶性差, 以聚山梨酸酯 80 为增溶剂, 而后者可直接引起细胞膜破裂、溶血和组胺释放, 这种非肿瘤特异性的细胞毒性可引起全身严重不良反应。本实验中, 注射用 DTX 对 A549 细胞表现出极强的生长抑制作用, 但随着注射用 DTX 的增加, 其抑制率变化曲线较 DTX-CTNPs 平缓, 提示 DTX 溶剂所包含的聚山梨酸酯 80 及无水乙醇是杀伤 A549 肺腺癌细胞的重要因素, 故在低浓度时即达到很高的抑制率, 然后曲线趋于平缓。CTNPs 对细胞仅有轻度抑制效应^[23-24]。DTX-CTNPs 可以克服其水溶性差的不足, 并降低其毒副作用。

用离子交联法制备 DTX-CTNPs, 实验条件温和, 所得 DTX-CTNPs 粒径均匀, 具有一定的缓释能力, 明显降低注射用 DTX 的细胞毒性, 有望成为一种理想的化疗药物载体。

参考文献:

- [1] Exposito O, Bonfill M, Moyano E, et al. Biotechnological production of taxol and related taxoids: current state and prospects [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2009, 9(1): 109-121.
- [2] Chattopadhyay SK, Tripathi S, Darokar MP, et al. Syntheses and cytotoxicities of the analogues of the taxoid brevifolliol [J]. *Eur J Med Chem*, 2008, 43(7): 1499-1505.
- [3] Zhao Y, Wang FS, Peng LY, et al. Taxoids from *Taxus chinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(12): 1813-1815.
- [4] van Zuylen L, Verweij J, Sparreboom A. Role of formulation vehicles in taxane pharmacology [J]. *Invest New Drugs*, 2001, 19(2): 125-141.
- [5] Engels FK, Mathot RA, Verweij J. Alternative drug formulations of docetaxel: a review [J]. *Anticancer Drugs*, 2007, 18(2): 95-103.
- [6] Gaucher G, Marchessault RH, Leroux JC. Polyester-based micelles and nanoparticles for the parenteral delivery of taxanes [J]. *J Control Release*, 2010, 143(1): 2-12.
- [7] Engels FK, Mathot RA, Verweij J. Alternative drug formulations of docetaxel: a review [J]. *Anticancer Drugs*, 2007, 18(2): 95-103.
- [8] Zhao M, Su M, Lin X, et al. Evaluation of docetaxel-loaded intravenous lipid emulsion: pharmacokinetics, tissue distribution, antitumor activity, safety and toxicity [J]. *Pharm Res*, 2010, 27(8): 1687-1702.
- [9] Gan CW, Chien S, Feng SS. Nanomedicine: enhancement of chemotherapeutic efficacy of docetaxel by using a biodegradable nanoparticle formulation [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(21): 2308-2320.
- [10] Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems [J]. *Colloids Surf Biointerfaces*, 2010, 75(1): 1-18.
- [11] Mourya VK, Inamdar NN. Trimethyl chitosan and its applications in drug delivery [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2009, 20(5): 1057-1079.
- [12] Masotti A, Ortaggi G. Chitosan micro- and nanospheres: fabrication and applications for drug and DNA delivery [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2009, 9(4): 463-469.
- [13] 王东武, 杨柳, 戴刚. 可注射 C/GP 支架的组织相容性及与 BMCs 的细胞相容性观察 [J]. *重庆医学*, 2007(9): 846-848.
- [14] Calvo P, Remunan-Lopez C, Vila-Jato JL, et al. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines [J]. *Pharm Res*, 1997, 14(10): 1431-1436. (下转第 3159 页)

子过度表达,血管紧张素和醛固酮过度激活等与心肌梗死后心室重塑有密切的关系,且均能抑制心脏功能。PPAR α 被认为是一种细胞内及细胞外的脂肪代谢的调节剂,其人工合成激动剂——贝特类药物可以增加血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,降低极低密度脂蛋白(VLDL)的合成和分泌,降低血清三酰甘油水平^[10]。研究显示激活的 PPAR α 能有效地抑制动脉平滑肌细胞内白细胞介素-1(IL-1)诱导的白细胞介素-6(IL-6)和前列腺素的产生,并且通过负性调节核因子- κ B(NF- κ B)和活化蛋白-1(AP-1)来发挥作用,降低血浆 C 反应蛋白^[11],激活的 PPAR α 还有调节心肌细胞的炎症、氧化应激反应,调节心肌细胞外基质重构及心肌细胞肥大的生物学作用^[12]。本研究发现,EPCs 联合非诺贝特进行干预 8 周后,C 组大鼠心功能均较 B 组有显著改善($P < 0.05$),可能是通过改善动脉血管内皮功能、调节脂类代谢、抗炎、抑制是肾素-血管紧张素系统激活等一系列机制来发挥作用的,并可以改善梗死区域局部的微环境,更加有利于所移植的 EPCs 发挥作用。

参考文献:

- [1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial angiogenesis [J]. *Science*, 1997, 275(5302):964-967.
- [2] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasculogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(2):288-293.
- [3] Kawamoto A, Heon-cheol G, Hideki I, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia[J]. *Circulation*, 2001, 103(5):634-637.
- [4] Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells[J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(11):1395-1402.
- [5] Isseemann I, Green S. Activation of a member of the ster-

oid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators[J]. *Nature*, 1990, 347(6294):645-650.

- [6] Pettengell R, Luft T, Henschler R, et al. Direct comparison by limiting dilution analysis of long term culture-initiating cells in human bone marrow, umbilical cord blood, and blood stem cells[J]. *Blood*, 1994, 84:3653-3659.
- [7] Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease[J]. *Circ Res*, 2001, 89(1):E1-7.
- [8] Schächinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(8):1690-1699.
- [9] Menasché P, Hagège AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure[J]. *Lancet*, 2001, 357(9252):279-280.
- [10] Pineda Torra T, Gervois P, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha in metabolic disease, inflammation, atherosclerosis and aging[J]. *Curr Opin Lipidol*, 1999, 10(2):151-159.
- [11] Staels B, Koenig W, Habib A, et al. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha, but not by PPARgamma activators [J]. *Nature*, 1998, 393(6687):790-793.
- [12] Lockyer P, Schisler JC, Patterson C, et al. Minireview: Won't get fooled again; the nonmetabolic roles of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the heart[J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(6):1111-1119.

(收稿日期:2011-03-09 修回日期:2011-06-13)

(上接第 3156 页)

- [15] 吴立明, 习温瑜, 管正红, 等. 壳聚糖纳米粒制备的研究进展[J]. *齐鲁药事*, 2008, 27(11):682-685.
- [16] 王增寿, 张华, 朱光辉, 等. 脑用表阿霉素壳聚糖微球的制备及其特性考察[J]. *中国医院药学杂志*, 2007, 27(2):148-152.
- [17] Kaya AO, Buyukberber S, Dane F, et al. Cisplatin plus docetaxel combination in the first-line treatment of metastatic non-small cell lung cancer [J]. *Tumori*, 2010, 96(3):400-404.
- [18] Vasey PA, Jayson GC, Gordon A, et al. Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first-line chemotherapy for ovarian carcinoma. [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96(22):1682-1691.
- [19] Schneeweiss A, Marme F, Ruiz A, et al. A randomized phase II trial of doxorubicin plus pemetrexed followed by docetaxel versus doxorubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel as neoadjuvant treatment of early breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(3):609-617.
- [20] Petrioli R, Paoletti L, Francini E, et al. Weekly docetaxel

and epirubicin in treatment of advanced hormone-refractory prostate cancer[J]. *Urology*, 2007, 69(1):142-146.

- [21] 项颖, 李启英, 邵江河. 多西紫杉醇联合顺铂治疗 37 例晚期非小细胞肺癌临床分析[J]. *重庆医学*, 2008(15):1723-1724.
- [22] Hanna N, Shepherd FA, Fossella FV, et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(9):1589-1597.
- [23] Maeda Y, Kimura Y. Antitumor effects of various low-molecular-weight chitosans are due to increased natural killer activity of intestinal intraepithelial lymphocytes in sarcoma 180-bearing mice[J]. *J Nutr*, 2004, 134(4):945-950.
- [24] Qi L, Fau XZ, Xu Z, et al. In vitro and in vivo suppression of hepatocellular carcinoma growth by chitosan nanoparticles[J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(1):184-193.

(收稿日期:2011-05-09 修回日期:2011-07-12)