

## 纳米药物PTX<sub>2</sub> NPs的制备及其对人肺癌A549细胞的杀伤作用

薛 晗<sup>1</sup>, 范宇鑫<sup>1</sup>, 张 婷<sup>2</sup>, 李智敏<sup>1</sup>, 霍明歌<sup>1</sup>, 关新刚<sup>1,3</sup>

(1. 北华大学医学技术学院临床检验系, 吉林 吉林 132013; 2. 浙江省温岭市第一人民医院呼吸内科, 浙江 台州 317599; 3. 台州学院医学院基础医学部, 浙江 台州 318000)

**[摘要]** **目的:** 利用嵌段共聚物二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000 (DSPE-PEG<sub>2000</sub>) 制备包裹紫杉醇二聚体 (PTX<sub>2</sub>) 的纳米药物PTX<sub>2</sub>纳米粒子 (NPs), 即PTX<sub>2</sub> NPs, 探讨PTX<sub>2</sub> NPs对人肺癌A549细胞的杀伤效果及其对细胞凋亡的影响。**方法:** 利用纳米沉淀法制备PTX<sub>2</sub> NPs, 采用动态光散射法 (DLS) 检测其粒径分布, 透射电子显微镜 (TEM) 观察PTX<sub>2</sub> NPs的超微结构。在0和10 mmol·L<sup>-1</sup> 二巯苏糖醇 (DTT) 处理后, 采用透析法检测PTX<sub>2</sub> NPs体外释放情况。采用细胞计数试剂盒8 (CCK-8) 法检测不同浓度PTX<sub>2</sub>和PTX<sub>2</sub> NPs (0.000 1、0.001 0、0.010 0、0.100 0和1.000 0 μmol·L<sup>-1</sup>) 处理后各组A549细胞存活率。将A549细胞分为对照组、PTX<sub>2</sub>和PTX<sub>2</sub> NPs组, 采用细胞活/死染色法检测各组A549细胞生存情况, 流式细胞术检测各组人肺癌A549细胞凋亡率。**结果:** DLS检测, PTX<sub>2</sub> NPs粒径为144.7 nm, TEM下呈均一圆球结构; PTX<sub>2</sub> NPs能够在还原环境中持续释放紫杉醇 (PTX), 72 h累积释放率约为84%。CCK-8法, PTX<sub>2</sub>和PTX<sub>2</sub> NPs均抑制A549细胞增殖且呈剂量依赖性。在PTX浓度<0.01 μmol·L<sup>-1</sup>时, 与PTX<sub>2</sub>组比较, PTX<sub>2</sub> NPs组A549细胞存活率明显降低 ( $P<0.01$ 或 $P<0.001$ )。活/死细胞染色法, 与PTX<sub>2</sub>组比较, PTX<sub>2</sub> NPs组红色荧光标记的死细胞数量增加。流式细胞术, 与对照组和PTX<sub>2</sub>组比较, PTX<sub>2</sub> NPs组A549细胞凋亡率明显升高 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。**结论:** 成功制备包裹PTX<sub>2</sub>的纳米药物PTX<sub>2</sub> NPs, 能够响应性释放PTX, 对人肺癌A549细胞具有较PTX<sub>2</sub>更明显的杀伤作用。

**[关键词]** 紫杉醇二聚体; 纳米粒子; 肺腺癌; 药物递送; 细胞凋亡

**[中图分类号]** R730.53 **[文献标志码]** A

## Preparation of nanodrug PTX<sub>2</sub> NPs and its killing effect on human lung cancer A549 cells

XUE Han<sup>1</sup>, FAN Yuxin<sup>1</sup>, ZHANG Ting<sup>2</sup>, LI Zhimin<sup>1</sup>, HUO Mingge<sup>1</sup>, GUAN Xingang<sup>1,3</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory Diagnostics, School of Medical Technology, Beihua University, Jilin 132013, China; 2. Department of Respiratory Medicine, First People's Hospital, Wenling City, Zhejiang Province, Taizhou 317599, China; 3. Department of Basic Medicine, School of Medical Sciences, Taizhou College, Taizhou 318000, China)

**ABSTRACT** **Objective:** To prepare the nanodrug paclitaxel dimer (PTX<sub>2</sub>)-loaded nanoparticles (NPs)

**[收稿日期]** 2024-10-19 **[录用日期]** 2024-12-05

**[基金项目]** 吉林省教育厅科研项目 (JKKH20200033KJ); 浙江省卫健委医药卫生科技计划项目 (2024KY547); 浙江省台州市抗癌协会肿瘤专项科研项目 (TATA-C06)

**[作者简介]** 薛 晗 (1998—), 女, 吉林省通化市人, 在读硕士研究生, 主要从事用于肿瘤治疗创新药物方面的研究。

**[通信作者]** 关新刚, 教授, 硕士研究生导师 (E-mail: guanxg@ciac.ac.cn)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

using the block copolymer 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-polyethylene glycol 2000, (DSPE-PEG<sub>2000</sub>), and to explore the killing effect of PTX<sub>2</sub> NPs on the human lung cancer A549 cells and its influence on apoptosis. **Methods:** The PTX<sub>2</sub> NPs were prepared using nanoprecipitation method. Dynamic light scattering (DLS) was employed to determine the particle size distribution, and transmission electron microscope (TEM) was used to observe the ultrastructure of the nanoparticles. After treatment of 0 and 10 mmol·L<sup>-1</sup> dithiothreitol (DTT), dialysis method was used to evaluate the *in vitro* drug release profile of PTX<sub>2</sub> NPs. The cell counting kit-8 (CCK-8) method was used to assess the survival rates of the A549 cells after treated with PTX<sub>2</sub> and PTX<sub>2</sub> NPs with different concentrations (0.000 1, 0.001 0, 0.010 0, 0.100 0, and 1.000 0 μmol·L<sup>-1</sup>). The A549 cells were divided into control group, PTX<sub>2</sub> group, and PTX<sub>2</sub> NPs group. Live/dead staining method was used to detect the survival of the A549 cells in various groups, and flow cytometry was used to detect the apoptotic rates of the A549 cells in various groups. **Results:** The mean hydrodynamic diameter of PTX<sub>2</sub> NPs was determined to be 144.7 nm by DLS. The TEM imaging confirmed uniform spherical morphology of PTX<sub>2</sub> NPs. In a reductive environment, the PTX<sub>2</sub> NPs exhibited continuous drug release with total paclitaxel (PTX) release of 84% within 72 h. The results of CCK-8 method showed that both PTX<sub>2</sub> and PTX<sub>2</sub> NPs inhibited the proliferation of A549 cells in a dose-dependent manner. When the concentrations of PTX < 0.01 μmol·L<sup>-1</sup>, compared with PTX<sub>2</sub> group, the survival rates of A549 cells in PTX<sub>2</sub> NPs group were significantly decreased ( $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ). The live/dead staining results showed that compared with PTX<sub>2</sub> group, the number of red fluorescence-labeled dead cells in PTX<sub>2</sub> NPs group was increased. The flow cytometry results demonstrated that compared with control group and PTX<sub>2</sub> group, the apoptotic rates of the A549 cells in PTX<sub>2</sub> NPs group were significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The PTX<sub>2</sub>-loaded nanoparticles PTX<sub>2</sub> NPs are successfully prepared which exhibits responsive drug release and demonstrates a more significant killing effect on the human lung cancer A549 cells compared to PTX<sub>2</sub>.

**KEYWORDS** Paclitaxel dimer; Nanoparticle; Lung adenocarcinoma; Drug delivery; Apoptosis

紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 是一种从裸子植物红豆杉的树皮分离提纯的天然次生代谢产物, 通过诱导与促进微管蛋白聚合并防止微管解聚, 抑制癌细胞的有丝分裂, 从而抑制肿瘤增殖<sup>[1-2]</sup>。作为一种广谱抗癌药, PTX 目前已用于肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌和头颈癌等多种肿瘤的治疗<sup>[3-7]</sup>。尽管 PTX 抗癌效果显著, 但紫杉类药物通常溶解性较差, 在水中溶解度仅为 0.4 mg·L<sup>-1</sup><sup>[8-9]</sup>。近年来 PTX 脂质体和白蛋白结合型 PTX 等剂型克服了助溶剂带来的不良反应<sup>[10-12]</sup>, 提高了药物利用率<sup>[13-16]</sup>。

PTX 二聚体 (paclitaxel dimer, PTX<sub>2</sub>) 是通过桥连基团将 2 个 PTX 分子偶联得到的 PTX 前药, 显著提高了 PTX 的溶解性与肿瘤细胞毒性。有研究<sup>[17-18]</sup> 制备了利用氧化还原响应的二硫键作为桥连基团的 PTX<sub>2</sub>, 其可以发挥增强前药分子结构柔性、赋予前药响应肿瘤微环境释放的作用, 实现了药物在正常组织中不释放而在肿瘤组织 (高氧化还原环境) 中响应性释放, 提高了药物在肿瘤组织的蓄积, 提升了药物体内抑制肿瘤增殖效果<sup>[19]</sup>。

二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 (1, 2-

distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-polyethylene glycol, DSPE-PEG) 聚合物兼具了磷脂的两亲性和聚乙二醇的亲水特性, 具有良好的生物相容性和可降解性, 近年来作为载体在药物递送方面取得了重要进展<sup>[20]</sup>。为了进一步提高药物利用效率, 本研究利用嵌段共聚物 DSPE-PEG<sub>2000</sub> 包裹含有二硫键的 PTX<sub>2</sub>, 制备了搭载 PTX<sub>2</sub> 的纳米药物 PTX<sub>2</sub> 纳米粒子 (nanoparticles, NPs), 即 PTX<sub>2</sub> NPs, 并在人肺癌 A549 细胞中检测该纳米药物的毒性及其对细胞凋亡的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞、主要试剂和仪器** 人肺癌 A549 细胞来自于北华大学医学技术学院临床检验系实验室细胞库。PTX<sub>2</sub> 由中国科学院长春应用化学研究所裴晴研究员惠赠。1% 青-链霉素溶液和细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 试剂、Calcein/碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 细胞活性和细胞毒性检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术公司, Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自江苏

凯基生物技术公司,二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、改良Eagle培养基(Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM)和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)均购自生工生物工程股份有限公司。纳米粒径分析仪Delsa™ Nano和CytoFLEX LX流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特有限公司,高效液相色谱仪Agilent 1100购自美国安捷伦科技有限公司, M200多功能酶标仪购自瑞士Tecan公司,倒置荧光显微镜购自日本Nikon公司。

**1.2 细胞培养** 将液氮罐中冻存的A549细胞取出后于37℃水浴锅中迅速解冻,离心后弃去上清液,加入含有10%灭活FBS和1%青-链霉素溶液的DMEM培养基,轻柔吹匀。全部细胞悬液加入细胞培养皿中,于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养过夜。细胞密度达80%~90%时即可进行传代培养。

**1.3 PTX<sub>2</sub> NPs的制备和表征** 通过纳米沉淀法对PTX<sub>2</sub> NPs进行纳米组装。首先将DSPE-PEG<sub>2000</sub>和PTX<sub>2</sub>溶解于1 mL乙醇/四氢呋喃(体积比为80:20)的混合溶剂中,1 200 r·min<sup>-1</sup>搅拌下将混合溶液滴加入4 mL去离子水,NPs即可发生自组装,通过透析法在25℃去离子水中去除有机溶剂。将制备的NPs置于4℃保存。采用纳米粒径分析仪检测NPs尺寸分布,透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)下观察其显微结构。

**1.4 透析法检测PTX<sub>2</sub> NPs体外释放量** 采用动态膜透析法研究PTX<sub>2</sub> NPs纳米胶束中的体外药物释放情况。将1 mL PTX<sub>2</sub> NPs纳米胶束溶液置于截留相对分子质量为3 500的透析袋中,将透析袋分别浸入含有0和10 mmol·L<sup>-1</sup> DTT的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)中。于37℃、100 r·min<sup>-1</sup>水浴恒温振荡箱中震荡。分别在0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0、24.0、36.0、48.0和72.0 h后取1 mL释放溶液作为样品进行PTX定量,并加入新鲜PBS缓冲液使体积保持在40 mL。采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法检测各时间点样品中PTX浓度,并计算其累计释放量。累计释放量=(CT<sub>i</sub>×V+∑CT<sub>i</sub>×VT<sub>i</sub>)/M<sub>0</sub>×100%。CT<sub>i</sub>为某时刻取出的缓冲液中的药物浓度,V为缓冲液体积,VT<sub>i</sub>为某时刻取出的缓冲液体积,M<sub>0</sub>为加入样品中负载PTX的质量。

**1.5 CCK-8法检测PTX<sub>2</sub>和PTX<sub>2</sub> NPs处理后A549细胞存活率** 将处于对数生长周期的A549细胞,以每孔5×10<sup>3</sup>个细胞的密度接种于96孔细胞培养板中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中过夜孵育。24 h后弃去旧培养基,在每孔加入100 μL含有不同浓度(0.000 1、0.001 0、0.010 0、0.100 0和1.000 0 μmol·L<sup>-1</sup>) PTX<sub>2</sub>和PTX<sub>2</sub> NPs的完全培养基,每个浓度设5个复孔。继续培养48 h后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,孵育1 h。采用酶标仪检测450 nm波长处各组细胞吸光度(A)值,计算细胞存活率。细胞存活率=(实验组A值-空白组A值)/(阴性对照组A值-空白组A值)×100%。

**1.6 活/死细胞染色法检测各组A549细胞生存情况** 将A549细胞加入含有新鲜完全培养基的培养皿中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养。待细胞可进行传代培养时,将细胞以每孔5×10<sup>3</sup>个的密度接种于96孔细胞培养板中,孵育24 h后弃去原培养基。实验分为对照组、PTX<sub>2</sub>组和PTX<sub>2</sub> NPs组。PTX<sub>2</sub>组和PTX<sub>2</sub> NPs组每孔分别加入含0.1 μmol·L<sup>-1</sup> PTX<sub>2</sub>或PTX<sub>2</sub> NPs的新鲜完全培养基100 μL。对照组加入新鲜完全培养基100 μL。继续培养48 h后,弃去旧培养基,采用PBS缓冲液洗涤1~2次。加入100 μL配置好的含Calcein AM/PI检测工作液的培养基,避光孵育30 min。采用倒置荧光显微镜观察各组活细胞和死细胞染色情况(Calcein AM为绿色荧光,Ex/Em=494/517 nm;PI为红色荧光,Ex/Em=535/617 nm),活细胞呈现绿色荧光,死细胞呈现红色荧光。

**1.7 流式细胞术检测各组A549细胞凋亡率** 取对数生长期A549细胞,接种于12孔细胞培养板中,每孔5×10<sup>5</sup>个细胞,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱孵育过夜。细胞汇合度达到70%~80%时,分别加入终浓度为0.1 μmol·L<sup>-1</sup> PTX<sub>2</sub>或PTX<sub>2</sub> NPs,作为PTX<sub>2</sub>组和PTX<sub>2</sub> NPs组;并设对照组(不进行处理)。37℃孵育48 h后,收集培养液后,胰酶消化细胞,用PBS缓冲液洗涤细胞2次。加入500 μL binding buffer重悬细胞,加入5 μL Annexin V-FITC混匀后,加入5 μL PI,混匀后室温避光反应15 min,于1 h内采用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。细胞凋亡率=(晚期细胞凋亡数+早期细胞凋亡数)/总细胞数×100%。

**1.8 统计学分析** 采用Graphpad Prism 9.4.1统计软件进行统计学分析。各组细胞存活率和细胞凋

亡率符合正态分布, 以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析, 组间样本均数两两比较采用 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PTX<sub>2</sub> NPs 的表征 利用嵌段共聚物 DSPE-

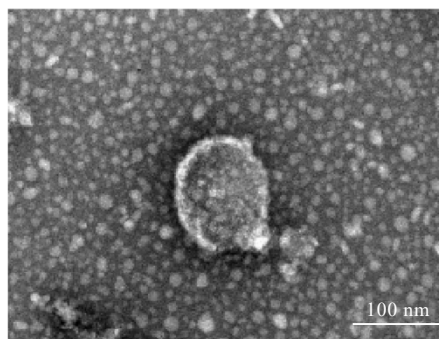
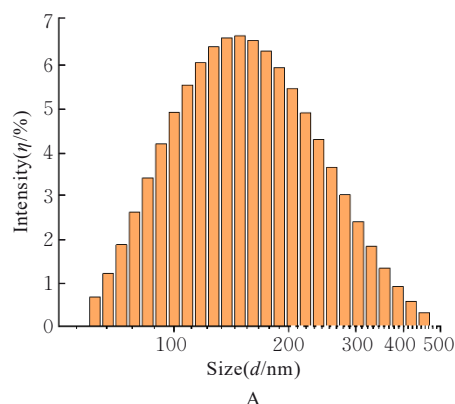


图1 PTX<sub>2</sub> NPs 的粒径分布(A)和形态表现(B)

Fig. 1 Size distribution(A) and morphology(B) of PTX<sub>2</sub> NPs

PEG<sub>2000</sub> 制备包裹 PTX<sub>2</sub> 的纳米药物 PTX<sub>2</sub> NPs, DLS 法测得纳米胶束平均粒径为 144.7 nm, NPs 的多分散系数 (polydispersity index, PDI) 为 0.233。TEM 显示所制备的纳米药物为圆球形结构。见图 1。

2.2 PTX<sub>2</sub> NPs 体外释放情况 PTX<sub>2</sub> NPs 在不含 DTT 的 PBS 溶液中于各时间点均未检测到药物释放; 在含有 10 mmol·L<sup>-1</sup> DTT 溶液中 PTX<sub>2</sub> NPs 持续释放 PTX, 在 72 h 时释放率约为 84%, 表明 PTX<sub>2</sub> 中引入二硫键使得 PTX<sub>2</sub> NPs 具有响应释放特性。见图 2。

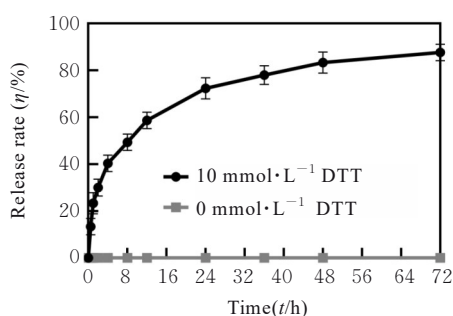


图2 PTX<sub>2</sub> NPs 体外药物释放率

Fig.2 *In vitro* drug release rates of PTX<sub>2</sub> NPs

2.3 PTX<sub>2</sub> 和 PTX<sub>2</sub> NPs 处理后各组肺癌 A549 细胞存活率 CCK-8 检测结果显示: PTX<sub>2</sub> 与 PTX<sub>2</sub> NPs 均显示出剂量依赖的肿瘤细胞毒性, 随着 PTX 浓度增加, 细胞存活率逐渐下降。在较低 PTX 浓度 (PTX 浓度  $< 0.01 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 情况下, 与 PTX<sub>2</sub> 组比较, PTX<sub>2</sub> NPs 组 A549 细胞存活率明显降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ), 提示纳米药物 PTX<sub>2</sub> NPs

在 A549 细胞中具有更强的肿瘤细胞毒性。见图 3。

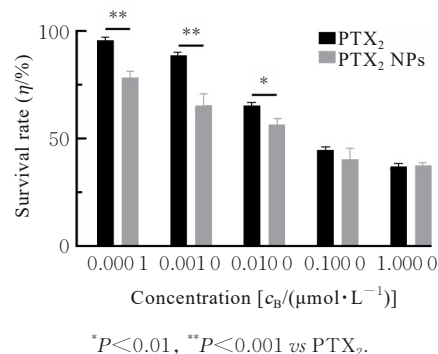


图3 CCK-8 法检测不同浓度 PTX<sub>2</sub> 和 PTX<sub>2</sub> NPs 作用后人肺癌细胞 A549 细胞存活率

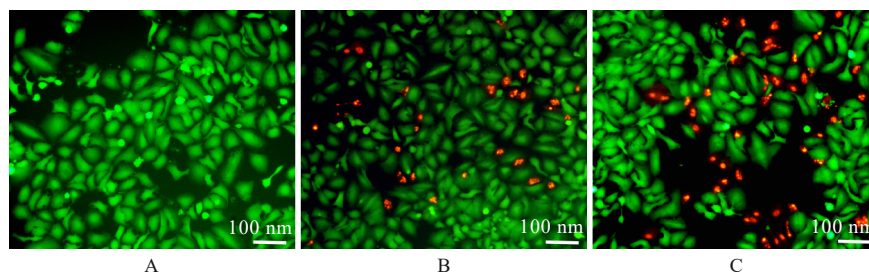
Fig. 3 Survival rates of human lung cancer A549 cells after treated with different concentrations of PTX<sub>2</sub> and PTX<sub>2</sub> NPs detected by CCK-8 method

2.4 PTX<sub>2</sub> 和 PTX<sub>2</sub> NPs 处理后各组 A549 细胞生存情况 活/死细胞染色法检测各组细胞生存情况结果显示: PTX<sub>2</sub> 和 PTX<sub>2</sub> NPs 组 A549 细胞红色荧光标记的细胞数量明显增多, 提示在相同药物浓度下 PTX<sub>2</sub> NPs 可杀死更多的肿瘤细胞, 提示纳米胶束包裹明显提高了 PTX<sub>2</sub> 对肿瘤细胞的杀伤作用。见图 4。

2.5 各组 A549 细胞凋亡率 流式细胞术检测结果

显示: 对照组细胞凋亡率约为16.76%, PTX<sub>2</sub>组细胞凋亡率约为24.52%, PTX<sub>2</sub> NPs组细胞凋亡率约为37.59%; 与对照组和PTX<sub>2</sub>组比较, PTX<sub>2</sub> NPs组

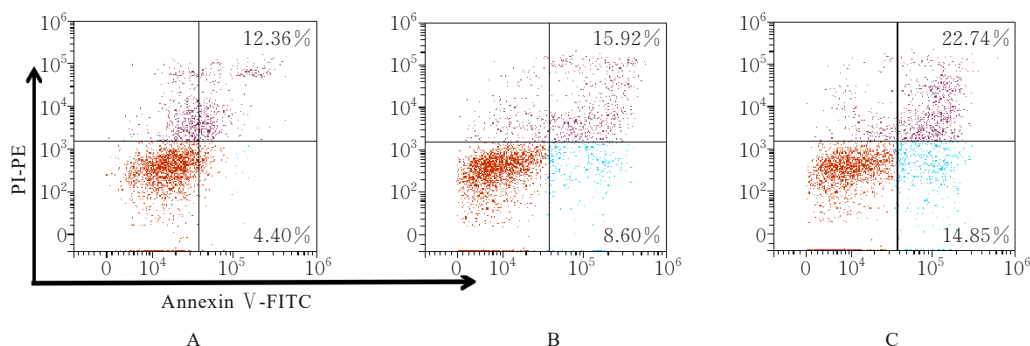
细胞凋亡率明显升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 提示纳米药物PTX<sub>2</sub> NPs能够诱发更多肺癌A549细胞发生凋亡。见图5和6。



A: Control group; B: PTX<sub>2</sub> group; C: PTX<sub>2</sub> NPs group.

图4 活/死细胞染色法检测各组A549细胞的生存情况

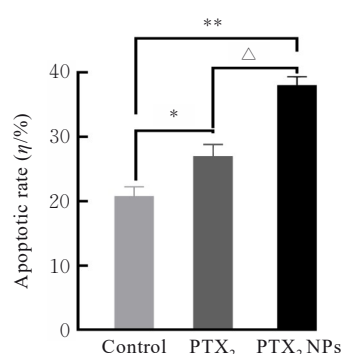
Fig. 4 Survival status of A549 cells in various groups detected by live/dead cell staining method



A: Control group; B: PTX<sub>2</sub> group; C: PTX<sub>2</sub> NPs group.

图5 流式细胞术检测纳米药物PTX<sub>2</sub> NPs诱导A549细胞凋亡情况

Fig. 5 Apoptosis of A549 cells induced by nanodrug PTX<sub>2</sub> NPs detected by flow cytometry



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta P < 0.05$  vs PTX<sub>2</sub> group.

图6 流式细胞术检测纳米药物PTX<sub>2</sub> NPs诱导A549细胞凋亡率

Fig. 6 Apoptotic rates of A549 cells induced by nano-drug PTX<sub>2</sub> NPs detected by flow cytometry

### 3 讨论

肺癌是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤, 也是我国癌症死亡最主要的原因之一<sup>[21]</sup>。化疗药

物治疗是临床常用的治疗肺癌手段之一, 但传统化疗药物导致大部分患者出现不良反应及耐药问题, 因此如何提高化疗药物的治疗效果成为关键难题<sup>[22]</sup>。

研究<sup>[23]</sup>显示: PTX作为广谱抗癌药, 对多种恶性肿瘤具有非常好的杀伤效果。利用纳米技术制备PTX纳米药物已在临床中广泛应用。嵌段共聚物DSPE-PEG<sub>2000</sub>具备良好的生物相容性和生物可降解性, 利用其制备的纳米胶束可提高药物载药量, 延长药物在体内的循环时间。WANG等<sup>[24]</sup>以PTX为模型药物, 制备了一种新型纳米药PTX纳米晶体 (paclitaxel nanocrystals, PNCs), 使用DSPE-PEG<sub>2000</sub>修饰PNCs, 改善PNCs在血液系统中的循环时间, 实现了药物的持续释放。陈聪惠等<sup>[25]</sup>研究显示: 应用具有靶向和pH敏感功能的新型仿脂蛋白结构纳米载体FA-BSA-LC/DOPE, 包载PTX可明显提高PTX的体内抗肿瘤效果, 有效控

制肿瘤体内增殖; ZHANG等<sup>[26]</sup>研究显示:应用聚乳酸-羟基乙酸共聚物制备的纳米胶束包裹PTX可增强药物稳定性,降低PTX给药频率,大幅度提升抗肿瘤效果。本研究利用DSPE-PEG<sub>2000</sub>制备纳米胶束担载PTX<sub>2</sub>,增强了PTX的肿瘤细胞毒性,能够高效诱导人肺癌细胞凋亡,杀伤肿瘤细胞。

综上所述,本研究成功制备了PTX<sub>2</sub>的纳米药物PTX<sub>2</sub> NPs,该纳米药物具有还原响应释放特性,在人肺癌A549细胞中显示出较强的肿瘤细胞毒性,提示PTX<sub>2</sub>纳米药物在肺癌治疗方面具有巨大潜力。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

薛晗参与研究设计和论文撰写,范宇鑫和张婷参与研究设计,李智敏和霍明歌参与数据分析,关新刚参与论文审阅和修改。

#### [参考文献]

- [1] KLEIN I, LEHMANN H C. Pathomechanisms of paclitaxel-induced peripheral neuropathy [J]. *Toxics*, 2021, 9(10): 229.
- [2] ZHAO S, TANG Y F, WANG R H, et al. Mechanisms of cancer cell death induction by paclitaxel: an updated review[J]. *Apoptosis*, 2022, 27(9/10): 647-667.
- [3] YANG Y H, MAO J W, TAN X L. Research progress on the source, production, and anti-cancer mechanisms of paclitaxel[J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(12): 890-897.
- [4] 黄佳欢, 雷 蕾, 王晓稼. 白蛋白结合型紫杉醇治疗晚期乳腺癌的研究进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2021, 36(6): 496-501.
- [5] SANTOS FARIA R, DE LIMA L I, BONADIO R S, et al. Liposomal paclitaxel induces apoptosis, cell death, inhibition of migration capacity and antitumoral activity in ovarian cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142: 112000.
- [6] ASHRAFIZADEH M, MIRZAEI S, HASHEMI F, et al. New insight towards development of paclitaxel and docetaxel resistance in cancer cells: EMT as a novel molecular mechanism and therapeutic possibilities [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111824.
- [7] HAIDER M, JAGAL J, BAJBOUJ K, et al. Integrated multi-omics analysis reveals unique signatures of paclitaxel-loaded poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles treatment of head and neck cancer cells[J]. *Proteomics*, 2023, 23(16): e2200380.
- [8] 马晶晶, 杨 政, 郭 惠, 等. 水溶性及靶向性紫杉醇前药的研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2021, 30(16): 1489-1497.
- [9] MENG Z Y, LV Q X, LU J, et al. Prodrug strategies for paclitaxel[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): 796.
- [10] 吴 莉, 郑桐森. 白蛋白结合型紫杉醇联合替吉奥治疗晚期胰腺癌的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(9): 1706-1709.
- [11] ALAVI M, NOKHODCHI A. Micro- and nanoformulations of paclitaxel based on micelles, liposomes, cubosomes, and lipid nanoparticles: Recent advances and challenges[J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(2): 576-584.
- [12] GAO Y, NAI J X, YANG Z B, et al. A novel preparative method for nanoparticle albumin-bound paclitaxel with high drug loading and its evaluation both *in vitro* and *in vivo*[J]. *PLoS One*, 2021, 16(4): e0250670.
- [13] 张思楠, 张丽娜. 紫杉醇的研究进展[J]. *山东化工*, 2023, 52(9): 72-74.
- [14] SUN L L, ZHAO P, CHEN M H, et al. Taxanes prodrug-based nanomedicines for cancer therapy[J]. *J Control Release*, 2022, 348: 672-691.
- [15] INGLE S G, PAI R V, MONPARA J D, et al. Liposils: an effective strategy for stabilizing Paclitaxel loaded liposomes by surface coating with silica[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 122: 51-63.
- [16] TIAN Z C, YAO W T. Albumin-bound paclitaxel: worthy of further study in sarcomas [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 815900.
- [17] 王 健, 裴 晴, 谢志刚. 紫杉醇二聚体纳米前药研究进展[J]. *化学研究*, 2021, 32(4): 283-289, 337.
- [18] 裴 晴. 具有超高载药量的紫杉醇二聚体纳米前药用于肿瘤治疗[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2019.
- [19] 姚秀敏, 郝登远, 裴 晴, 等. 基于磷脂基紫杉醇纳米前药的抗肿瘤应用研究[J]. *高分子学报*, 2023, 54(5): 708-719.
- [20] 郭苗苗. LND-SS-GEM/DSPE-PEG-FA纳米前药的制备及抗H460肺癌细胞作用机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2024.
- [21] 周 洁, 郑燕婷, 江舒琪, 等. CT影像组学联合形态学特征模型评估非小细胞肺癌患者预后生存期的价值[J]. *中国医学物理学杂志*, 2024, 41(1): 18-26.
- [22] 邱丽亮, 程玖玲, 王华启. NSCLC患者免疫检查点抑制剂相关性肺炎临床特点及其危险因素分析[J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(8): 861-867.

- [23] 黄莉莉, 刘宇轩, 方楷漪, 等. 载奥沙利铂细胞膜囊泡纳米药物的制备及其对小鼠结肠癌细胞的杀伤作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(6): 1422-1428.
- [24] WANG D D, WANG Y T, ZHAO G C, et al. Improving systemic circulation of paclitaxel nanocrystals by surface hybridization of DSPE-PEG2000[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 182: 110337.
- [25] 陈聪慧, 刘孟瑜. 靶向及pH敏感仿脂蛋白结构纳米载体运载紫杉醇的体内抗肿瘤研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(10): 2072-2077.
- [26] ZHANG Z R, WANG X Y, LI B B, et al. Paclitaxel-loaded PLGA microspheres with a novel morphology to facilitate drug delivery and antitumor efficiency[J]. *RSC Adv*, 2018, 8(6): 3274-3285.