

载姜黄素的透明质酸-熊果酸-硫辛酸交联纳米粒的制备及其体外抗肿瘤活性

郭晨曦, 史薇, 冯旭曼, 杨雅欣, 龚法伍, 刘占军*

华北理工大学 药学院, 河北 唐山 063210

摘要: **目的** 制备载姜黄素的透明质酸-熊果酸-硫辛酸交联纳米粒 (Cur/cLA-HU NPs), 并进行体外抗肿瘤活性评价。 **方法** 以载药量、包封率为指标, 采用超声法, 通过单因素考察优化 Cur/cLA-HU NPs 的制备工艺, 并对 Cur/cLA-HU NPs 的粒径、Zeta 电位、形态和体外释药情况进行评价。通过荧光倒置显微镜分析 HepG2 细胞对 Cur/cLA-HU NPs 的摄取, 以 MTT 法考察 Cur/cLA-HU NPs 对 HepG2 细胞的毒性。 **结果** 最佳载药工艺为: 以甲醇为药物姜黄素有机溶剂, 以药质比 4 : 10 进行投料, 超声于 100 W 下次数为 3 次, 每次处理 3 min, 超声程序设置为开 2 s、停 4 s。Cur/cLA-HU NPs 的包封率为 $(87.91 \pm 1.51)\%$, 载药量为 $(16.64 \pm 0.45)\%$, 粒径为 (172.3 ± 2.57) nm, PDI 为 (0.174 ± 0.021) , 分散均匀, Zeta 电位为 (-35.3 ± 2.12) mV。Cur/cLA-HU NPs 具有还原响应性, 释放药物的快慢受到 GSH 浓度的影响; 靶向肿瘤细胞, 且被细胞快速摄取; 对 HepG2 人肝癌细胞增殖具有明显抑制作用。 **结论** Cur/cLA-HU NPs 载药量和包封率高, 其体外抗肿瘤活性稍优于姜黄素, 具有肿瘤靶向性。

关键词: 载姜黄素的透明质酸-熊果酸-硫辛酸交联纳米粒; 姜黄素; 载药量; 包封率; Zeta 电位; 摄取; 抗肿瘤活性

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)07-1638-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.07.012

Preparation of curcumin-loaded hyaluronic acid-ursolic acid-lipoic acid cross-linked nanoparticles and their antitumor activity *in vitro*

GUO Chen-xi, SHI Wei, FENG Xu-man, YANG Ya-xin, GONG Fa-wu, LIU Zhan-jun

School of Pharmacy, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China

Abstract: Objective To prepare curcumin-loaded hyaluronic acid-ursolic acid-lipoic acid cross-linked nanoparticles (Cur/cLA-HU NPs), and evaluate their antitumor activities *in vitro*. **Methods** The preparation process of Cur/cLA-HU NPs was optimized by single-factor method and verification by ultrasound, taking drug load and encapsulation rate as indicators. The particle size, Zeta potential, morphology and *in vitro* drug release of Cur/cLA-HU NPs were evaluated. The uptake of Cur/cLA-HU NPs by HepG2 cells was qualitatively analyzed by fluorescence inverted microscopy and the cytotoxicity of Cur/cLA-HU NPs to HepG2 cells was investigated by MTT assay. **Results** The optimal preparation process is as following: methanol was used as the organic solvent of curcumin, the drug mass ratio was 4 : 10, the number of times of ultrasonic treatment was 3 at 100 W, and each time was treated for 3 min. The ultrasonic program was set to open for 2 s and stop for 4 s. The encapsulation efficiency of Cur/cLA-HU NPs was $(87.91 \pm 1.51)\%$, drug loading was $(16.64 \pm 0.45)\%$, particle size was (172.3 ± 2.57) nm, PDI was (0.174 ± 0.021) , dispersion was uniform, and Zeta potential was (-35.3 ± 2.12) mV. Cur/cLA-HU NPs exhibit reduction responsiveness, and the speed of drug release was influenced by the concentration of GSH. Cur/cLA-HU NPs target tumor cells and were rapidly up-taken by cells, and had a significant inhibitory effect on the proliferation of HepG2 cells. **Conclusion** Cur/cLA-HU NPs have high drug load and encapsulation rate, and its anti-tumor activity *in vitro* is slightly better than curcumin, with tumor targeting.

Key words: curcumin-loaded hyaluronic acid-ursolic acid-lipoic acid cross-linked nanoparticles; curcumin; drug load; encapsulation rate; Zeta potential; uptake; anti-tumor activity

收稿日期: 2023-02-02

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (H2021209024)

作者简介: 郭晨曦 (1997—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生。E-mail: 741054326@qq.com

*通信作者: 刘占军 (1967—), 男, 教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向为药用新材料、药物新剂型。E-mail: liuzhanjun929@sina.com

在水溶液中,具有两亲性的分子可自组装成纳米粒,暴露出与周围水分子接触的亲水链,而将其疏水链隐藏在里面,为主药特别是疏水药物提供空间^[1]。透明质酸能够主动靶向许多癌细胞过度表达的细胞表面受体 CD44 受体,可作为构建纳米粒的亲水链^[2]。熊果酸作为一种抗癌活性成分,可与姜黄素表现出协同抗肿瘤作用^[3],但较低的水溶性和生物利用度限制了其临床应用,需引入纳米技术制成纳米级制剂,以提高药物的临床疗效^[4]。硫辛酸具有含二硫键的硫辛环结构,可发生硫醇/二硫醚的氧化还原反应^[5]。在催化量 1,4-二硫代苏糖醇的水性条件下,硫辛酸的硫辛环易开环,聚合形成线性聚硫化物^[6]。谷胱甘肽在肿瘤细胞内的浓度为 2~10 mmol/L,在细胞外的浓度为 2~20 $\mu\text{mol/L}$,细胞外浓度明显高于细胞内,纳米粒中的硫-硫键结构断裂以响应肿瘤细胞内高浓度谷胱甘肽的细胞质环境^[7]。熊果酸具有抗癌活性、强疏水性,所以将其作为疏水链,通过共价链接枝到具有肿瘤靶向性的透明质酸亲水骨架上,构建两亲性偶联物,同时在亲水骨架上接枝具有二硫键结构的交联剂硫辛酸,催化生成线性聚硫醚结构,进行交联,自组装后载姜黄素,构建具有氧化还原响应和肿瘤靶向性的纳米粒。基于以上,本实验对两亲性透明质酸-熊果酸-硫辛酸交联物(hyaluronic acid-ursolic acid-lipoic acid conjugate, LA-HU)自组装形成的纳米粒包载姜黄素的工艺进行研究,并对载姜黄素的透明质酸-熊果酸-硫辛酸交联纳米粒(curcumin-loaded hyaluronic acid-ursolic acid-lipoic acid cross-linked nanoparticles, Cur/cLA-HU NPs)进行评价。

1 仪器和试剂

ZEN3690 型激光粒度分析仪(英国 Malvern 仪器公司);F-320 荧光分光光度计(天津港东科技股份有限公司);Lambda 35 紫外可见分光光度计(珀金埃尔默仪器有限公司);Agilent 1260-API500 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);iMark 全自动酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);I70-S8F2 荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司);JEM-2800 场发射透射电子显微镜(日本电子株式会社);实验透析袋 MD44(相对分子质量 3 500,北京怡康盛世生物科技有限公司)。

姜黄素(质量分数 98%,批号 C400271)、甲醇(分析纯)、二甲基亚砜(分析纯)、无水乙醇(分析纯)均购于阿拉丁有限公司;0.1%磷酸盐溶液由实

验室自配;甲醇、乙腈(色谱纯,北京迈瑞达科技有限公司);LA-HU(实验室自制,相对分子质量 1.17×10^4 ,熊果酸取代度为 10.5%,硫辛酸取代度为 13.6%);DMEM 高糖培养基(Eallbio,批号 NG190320EL)、胰酶(Eallbio,批号 N190823CF)、四甲基偶氮唑蓝(MTT, Eallbio,批号 190114)均购于北京中生奥邦生物科技有限公司;胎牛血清(FBS,天津康源生物技术有限公司);人肝癌细胞 HepG2 受赠于华北理工大学的齐亚娟教授实验室。

2 方法

2.1 制备流程

称取 LA-HU 10 mg,溶于 5 mL 水和二甲基亚砜混合溶液中,搅拌混匀。称取姜黄素 3 mg,加入 1 mL 药物溶剂溶解。将姜黄素溶液滴加入到 LA-HU 聚合物溶液中,磁力搅拌混匀后于 100 W 下进行超声处理,纯水过夜透析,离心后过 0.45 μm 滤膜,即得非交联载姜黄素纳米粒(curcumin-loaded hyaluronic acid-ursolic acid-lipoic acid nanoparticles, Cur/LA-HU NPs)。使用催化剂催化纳米粒内部分子内二硫键断裂,重构聚硫环,构建交联载姜黄素纳米粒 Cur/cLA-HU NPs。

2.2 姜黄素的 HPLC 测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(80:20);紫外检测波长为 425 nm;体积流量为 1.0 mL/min;进样量为 10 μL ;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.2 样品处理 精密量取 100 μL Cur/cLA-HU NPs 的 PBS 溶液置离心管中,并加入 100 μL 二甲基亚砜和 4 mL 甲醇,超声 1 h 进行破乳,离心后取上清,过 0.22 μm 滤膜。

2.2.3 药物测定 方法学试验参考文献报道^[8]。以姜黄素质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得到回归曲线方程 $Y=102\ 100\ 171\ X-236\ 390.604$, $R^2=0.999\ 8$,姜黄素在 10.0~100.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。取滤液进样测定,代入回归曲线方程计算 Cur/cLA-HU NPs 中姜黄素的质量分数。

2.3 载药量和包封率的计算

将所得的姜黄素质量分数的测定结果代入公式,计算载药量(DL)和包封率(EE)。

$DL = \text{纳米粒包载的药物质量} / \text{载药纳米粒质量}$

$EE = \text{纳米粒包载的药物质量} / \text{药物投料质量}$

2.4 超声法单因素考察最佳载药工艺

从超声次数、药物溶剂、姜黄素与载体 LA-HU

的质量比（药质比）3 个因素进行单因素变量比较，测定纳米粒的 DL 和 EE，确定载药非交联的最佳制备条件。

2.4.1 超声次数的考察 固定 LA-HU 的质量为 10 mg，姜黄素的投料量为 3 mg，以甲醇为溶剂，于 100 W 功率下对 LA-HU 溶液进行超声处理，结果见表 1。超声 3 次后的载药量和包封率较超声 2、4 次都高，结果更理想。超声 3、4 次后的沉淀比超声 2 次少，可能是因为超声时间较长，破坏聚合物结构后药物与聚合物接触程度更大，被包裹住的药量更多。超声 4 次的载药量和包封率较超声 3 次略小，且差距不大，所以采用超声 3 次作为实验操作。

表 1 不同超声次数对纳米粒 DL 和 EE 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of different ultrasonic times on DL and EE of nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

超声次数	溶液状态	DL/%	EE/%
2	大量沉淀	17.77±0.04	39.48±0.04
3	较少沉淀	23.20±0.07	58.35±0.65
4	较少沉淀	20.30±0.01	51.38±0.21

2.4.2 药物溶剂的考察 固定 LA-HU 的质量为 10 mg，姜黄素的投料量为 3 mg，使用溶剂甲醇、无水乙醇和二甲基亚砷溶解姜黄素，于 100 W 功率下对 LA-HU 溶液进行超声处理，结果见表 2。作为药物溶剂，甲醇的载药量和包封率最高，乙醇次之，二甲基亚砷最低。甲醇作药物溶剂时，溶液的沉淀少，说明整个纳米体系较稳定，所以以甲醇作为药物良溶剂来进行接下来的实验。

表 2 不同药物溶剂对纳米粒 DL 和 EE 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effects of different drug solvents on DL and EE of nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药物溶剂	溶液状态	DL/%	EE/%
甲醇	较少沉淀	19.05±0.05	45.85±0.47
乙醇	大量沉淀	10.55±0.12	25.41±0.11
二甲基亚砷	较少沉淀	16.52±0.08	37.46±0.62

2.4.3 药质比的考察 固定 LA-HU 的质量为 10 mg，姜黄素的投料量为 3 mg，以甲醇为溶剂，以不同药质比（1：10、2：10、3：10、4：10、5：10）对 Cur/cLA-HU NPs 进行载药。结果见表 3。药质比增加的同时，载药量也随之增加，但包封率先增后减。药质比增加到 2：10 时，包封率最大，包封效

果最好；但是药质比达到 5：10 时，包封率比之前减小，可能是因为药物与载体的接触程度在药质比 4：10 已达到了饱和，以致药物无法再包载，造成损失。所以采用药质比 4：10 的条件进行以下实验。

表 3 不同药质比对纳米粒 DL 和 EE 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effects of different drug-to-carrier ratios on DL and EE of nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药质比	DL/%	EE/%
1：10	2.66±0.03	24.70±2.13
2：10	6.34±0.07	33.41±1.72
3：10	7.51±0.05	37.60±1.23
4：10	11.72±0.28	38.82±1.47
5：10	13.25±0.16	26.70±1.51

2.4.4 最佳载药工艺 以单因素变量法筛选出优化工艺：以甲醇为药物姜黄素有机溶剂，以药质比 4：10 进行投料，超声于 100 W 下次数为 3 次，每次处理 3 min，超声程序设置为开 2 s、停 4 s。

2.5 交联纳米粒的制备

向非交联载药纳米粒的溶液中加入适量的二硫代苏糖醇（其中硫辛酰基基团物质的量比例的 10%），在氮气保护下磁力搅拌，纯水透析过夜，离心 15 min 去沉淀，过 0.45 μm 滤膜即得交联后的载药纳米粒，测定纳米粒的 DL 和 EE。结果见表 4。Cur/cLA-HU NPs 的包封率为（87.91±1.51）%，载药量为（16.64±0.45）%。载药交联纳米粒的载药量和包封率都略高于载药非交联纳米粒。

表 4 交联对纳米粒 DL 和 EE 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=2$)

Table 4 Effect of cross-linking on DL and EE in nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n=2$)

纳米粒种类	DL/%	EE/%
交联	16.64±0.45	87.91±1.51
非交联	12.72±0.28	68.86±1.47

2.6 Cur/cLA-HU NPs 的粒径、电位、PDI 测定

使用透射扫描电镜观察 Cur/cLA-HU NPs 的形态。将纳米粒溶液用适量水和乙醇的混合溶液稀释，滴少量溶液于样品台的碳支持膜上，室温环境中待其干燥后，进行拍照。通过电镜观察 Cur/cLA-HU NPs 的外观形态，见图 1。可以看出该纳米粒颜色比周围环境暗，是球形结构。通过激光粒度仪进行粒径、电位、PDI 的考察，结果 Cur/cLA-HU NPs

粒径为 (172.3 ± 2.57) nm, PDI 为 (0.174 ± 0.021) , 分散均匀, Zeta 电位为 (-35.3 ± 2.12) mV。

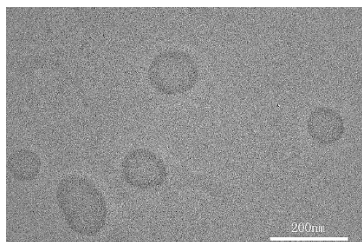


图 1 Cur/cLA-HU NPs 的 TEM 图

Fig. 1 TEM image of Cur/cLA-HU NPs

2.7 Cur/cLA-HU NPs 的体外释放实验

采用动态膜透析法模拟细胞在不同条件下的药物释放, 研究 Cur/cLA-HU NPs 在 pH 7.4 还原型谷胱甘肽 (GSH) 不同浓度下的还原响应性。取 5 mL Cur/cLA-HU NPs 溶液密封于透析袋中, 浸泡入 50 mL 含有两种不同浓度 ($10 \mu\text{mol/L}$ 、 10 mmol/L) GSH 的 PBS 缓冲溶液中, 在 37°C 、 100 r/min 的水浴中振荡, 在预定的时间取出 1 mL 释放介质, 补充等体积介质, 测定纳米粒的 DL 和 EE, 计算累积释放率^[8], 结果见图 2。

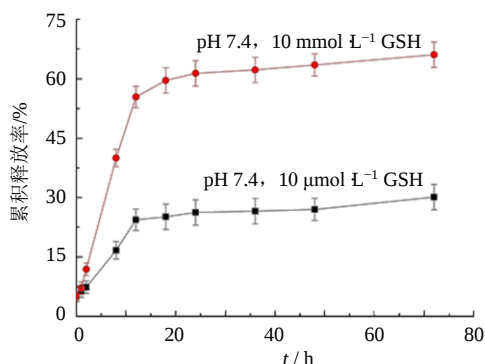


图 2 姜黄素在 GSH 不同浓度条件下的释放 ($\bar{x} \pm s$, $n=2$)

Fig. 2 Drug release of curcumin under different GSH conditions ($\bar{x} \pm s$, $n=2$)

可见 Cur/cLA-HU NPs 在 pH 7.4、 10 mmol/L 的 GSH 溶液中, 在 12 h 内姜黄素达到约 40% 的累积释放率, 在 72 h 内姜黄素累积释放率达 66% 左右; 而在 $10 \mu\text{mol/L}$ GSH 中, Cur/cLA-HU NPs 在 12 h 内姜黄素的累积释放率只有 16% 左右, 低于 10 mmol/L GSH 溶液条件下的累积释药量。结果表明, 在高浓度 GSH 的环境下, GSH 诱导二硫键断裂, Cur/cLA-HU NPs 结构被破坏, 从而快速释放姜黄素, 而在低浓度 GSH 的环境下, 纳米粒的释药较

慢, 提示 Cur/cLA-HU NPs 具有还原响应性, 释放药物的快慢受到 GSH 浓度的影响。

2.8 细胞摄取试验

用含有姜黄素、Cur/LA-HU NPs 和 Cur/cLA-HU NPs 的新鲜培养基处理贴壁的 HepG2 细胞, 使 6 孔板中各孔姜黄素的质量浓度均为 $10 \mu\text{g/mL}$, 通过荧光倒置显微镜观察 HepG2 细胞的荧光强度。精密称取姜黄素 1 mg, 置于 100 mL 量瓶内, 加新鲜培养基定容, 得到 $10 \mu\text{g/mL}$ 姜黄素培养基溶液。精密称取 Cur/LA-HU NPs、Cur/cLA-HU NPs 各 0.6 mg, 置于 10 mL 量瓶内, 加新鲜培养基定容, 得姜黄素质量浓度为 $10 \mu\text{g/mL}$ 的培养基溶液。因姜黄素具有荧光特性, 所以通过荧光倒置显微镜可以进行追踪显示绿色荧光的姜黄素, 无需使用其他荧光染料进行标记。如图 3 所示, 在 6 h 时, 相比于姜黄素溶液, Cur/LA-HU NPs、Cur/cLA-HU NPs 具有较强的荧光, 说明纳米粒靶向肿瘤细胞, 且被细胞快速摄取, 胞内 GSH 诱导二硫键断裂, 释药速度加快, 显示更强的荧光; 由于 Cur/cLA-HU NPs 的载药量和包载率均高于 Cur/LA-HU NPs, Cur/cLA-HU NPs 在 HepG2 细胞中的荧光稍强, 且被更多的细胞快速摄取。

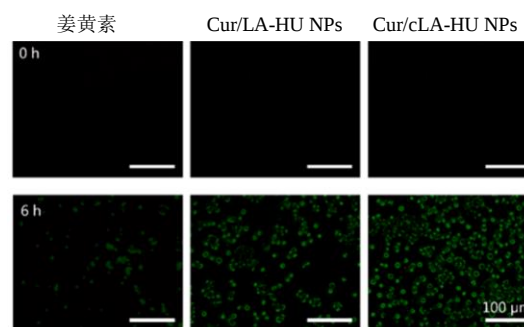


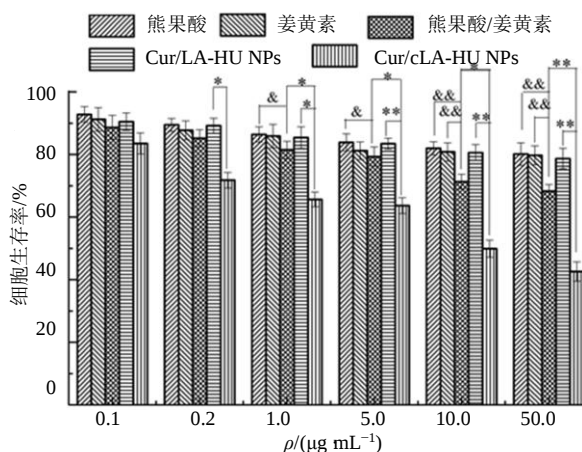
图 3 姜黄素、Cur/LA-HU NPs 和 Cur/cLA-HU NPs 的细胞摄取

Fig. 3 Cell uptake of curcumin, Cur/LA-HU NPs, and Cur/cLA-HU NPs

2.9 细胞毒性实验

将 HepG2 细胞以 5×10^3 cells/well 的密度接种于 96 孔板中, 孵育过夜。精密称取姜黄素、熊果酸、空白交联纳米粒 (cLA-HU NPs) 和 Cur/cLA-HU NPs, 配制 0.1、0.2、1.0、5.0、10.0、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。熊果酸/姜黄素溶液 (UA/Cur) 中姜黄素质量浓度分别为 0.10、0.2、1.0、5.0、10.0、50.0 $\mu\text{g/mL}$, 对应其中熊果酸质量浓度分别为 0.060、0.12、0.61、

3.04、6.08、30.43 $\mu\text{g/mL}$ 。实验组分别加入姜黄素溶液、熊果酸溶液、熊果酸/姜黄素溶液、cLA-HU NPs 溶液和 Cur/cLA-HU NPs 溶液，对照组加入等体积培养液，培养 24 h 后，每孔加 5 mg/mL MTT 溶液 10 μL 后培养 4 h，终止培养，并弃旧细胞液，每孔加入 150 μL 二甲基亚砜，避光，摇床震荡 10 min 后于 570 nm 处酶标仪测定吸光度 (A) 值，计算细胞存活率 (细胞存活率 = $A_{\text{实验}}/A_{\text{对照}}$)，结果见图 4。



与 Cur/cLA-HU NPs 比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与熊果酸/姜黄素比较: & $P < 0.05$ && $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Cur/cLA-HU NPs; & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ vs ursolic acid or curcumin

图 4 熊果酸、姜黄素、UA/Cur、cLA-HU NPs 和 Cur/cLA-HU NPs 对 HepG2 细胞的细胞毒性

Fig. 4 Cytotoxicity of ursolic acid, curcumin, UA/Cur, cLA-HU NP and Cur/cLA-HU NP to HepG2 cells

结果显示 Cur/cLA-HU NPs 对 HepG2 人肝癌细胞增殖具有明显抑制作用。姜黄素对细胞增殖有抑制作用，其抑制作用呈现剂量相关性^[9]；而熊果酸抑制作用也呈现剂量相关性^[10]。两者联合用药后，显示抑制作用显著性加强 ($P < 0.01$)，与文献报道^[3]一致，药物的联合应用比单独用药对肿瘤细胞的抑制作用更大。相比于 Cur/cLA-HU NPs，cLA-HU NPs 的细胞抑制作用较弱，除了没有包载姜黄素的原因，可能还由于硫辛酸本身是作为参与机体内物质代谢的辅酶，具有生物相容性和生物安全性。相比于熊果酸/姜黄素，Cur/cLA-HU NPs 对细胞的增殖抑制作用更强，是因为透明质酸可以与 CD44 受体特异性结合，增加 HepG2 细胞的摄取，并且剂型的改变也有助于细胞的摄取。

3 讨论

本实验优化了 Cur/cLA-HU NPs 的制备工艺，

并对其进行了体外评价。采用单因素变量法来筛选优化非交联 Cur/LA-HU NPs 的制备工艺。通过非交联 Cur/LA-HU NPs 溶液载药量和包封率值的测定，得出最佳制备工艺条件。后经催化剂催化交联后，制备高载药率和高包封率的 Cur/cLA-HU NPs。可能是在催化剂二硫苏糖醇的作用下，分子内二硫键断裂后形成的具有分子间二硫键的网状结构包载了更多的药物，使得交联纳米粒的载药量和包封率都略高于未交联的纳米粒。Cur/cLA-HU NPs 粒径大小合适，且分散均匀，呈球形结构。由于 Cur/cLA-HU NPs 具有还原响应性，在高浓度 GSH 的环境下，其释药速度比在低浓度 GSH 的环境下更快。

MTT 实验和细胞摄取实验表明，姜黄素和熊果酸的联合应用对肿瘤细胞的抑制作用比单独用药更大，达到协同增效作用；Cur/LA-HU NPs 通过透明质酸与 CD44-受体特异性结合，增强了细胞对姜黄素的摄取，为实现药物的集中累积提供可能。因此 Cur/cLA-HU NPs 载药量和包封率高，其体外抗肿瘤活性稍优于姜黄素，具有肿瘤靶向性，安全性好，在递送疏水性抗癌药物方面具有良好的应用前景，实现肿瘤的靶向治疗作用，达到减毒增效的目的，可为其他肿瘤药物的开发提供一种策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张舒迪, 邵艳寻, 郭切切, 等. 负载阿霉素的黄芩苷纳米粒的制备及其体外性能评价 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(7): 1482-1486
- [2] Balendiran G K, Dabur R, Fraser D. The role of glutathione in cancer [J]. *Cell Biochem Funct*, 2004, 22(6): 343-352
- [3] Tremmel L, Rho O, Slaga T J, et al. Inhibition of skin tumor promotion by TPA using a combination of topically applied ursolic acid and curcumin [J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(2): 185-195
- [4] 李林峰, 高漓. 纳米载药系统在泌尿系肿瘤治疗中应用的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(8): 1724-1728.
- [5] Packer L, Cadenas E. Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2011, 48(1): 26-32
- [6] Ling L B, Ismail M, Du Y W, et al. Lipoic acid-derived cross-linked liposomes for reduction-responsive delivery of anticancer drug [J]. *Int J Pharm*, 2019, 560: 246-260

- [7] Luo Y, Bernshaw N J, Lu Z R, *et al.* Targeted delivery of doxorubicin by HPMA copolymer-hyaluronan bioconjugates [J]. *Pharm Res*, 2002, 19(4): 396-402
- [8] 郭切切, 张舒迪, 邵艳寻, 等. 还原响应型靶向自载药纳米粒的制备及其体外评价 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(19): 2511-2520
- [9] Ren B Q, Luo S D, Tian X F, *et al.* Curcumin inhibits liver cancer by inhibiting DAMP molecule HSP70 and TLR4 signaling [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2): 895-901
- [10] Son H S, Kwon H Y, Sohn E J, *et al.* Activation of AMP-activated protein kinase and phosphorylation of glycogen synthase kinase3 beta mediate ursolic acid induced apoptosis in HepG2 liver cancer cells [J]. *Phytother Res*, 2013, 27(11): 1714-1722.

【责任编辑 解学星】