

甘草酸、甘草次酸的抗肿瘤机制及其作为药物递送载体的研究进展

王若宁^{1,2}, 柳雨影^{1,2}, 陈 健^{1,2}, 王洪兰^{1,2}, 李俊松^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210023

摘 要: 甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* 是中医临床常用中药之一, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药等功能。其主要活性成分为皂苷、黄酮、多糖等。其中, 皂苷类成分甘草酸、甘草次酸不仅对肝癌、肺癌、乳腺癌等多种癌症具有抑制作用, 还能与化疗药物联用增加药效, 同时可被开发用作药物递送的载体材料以解决药物低水溶性、低生物利用度、高毒副作用等问题。研究发现, 甘草酸、甘草次酸的增溶作用可能与其两亲性结构有关, 有望进一步探索它们作为药物跨膜运输载体的特性。基于甘草的抗肿瘤机制, 系统地甘草酸、甘草次酸在药物递送系统方面的应用进行综述, 为开发甘草酸、甘草次酸作为药物递送系统辅料的深入研究提供参考。

关键词: 甘草酸; 甘草次酸; 抗肿瘤活性; 药物递送系统; 辅料

中图分类号: R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)23-5876-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.032

Antitumor mechanism of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid and their application as drug delivery carriers

WANG Ruo-ning^{1,2}, LIU Yu-ying^{1,2}, CHEN Jian^{1,2}, WANG Hong-lan^{1,2}, LI Jun-song^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of TCM, Nanjing 210023, China

Abstract: *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* is one of the commonly used Chinese materia medica in clinic. It has the effects of tonifying spleen and replenishing *qi*, clearing heat and removing toxin, dispelling phlegm, relieving cough, relieving pain, and reconciling various drugs. Its main active ingredients are saponins, flavonoids and polysaccharides. Among them, glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid not only have inhibitory effects on liver cancer, lung cancer, breast cancer and other cancers, but also can be combined with chemotherapeutic drugs to increase drug efficacy as well. At the same time, they can be developed as drug carrier for drug delivery to solve the problems of low water solubility, low bioavailability, high toxicity and side effects of drugs. It was found that their solubilization may be closely related to their amphiphilic structure, which is expected to further explore the role of their carrier characteristics in drug transmembrane transport. Based on the anti-tumor mechanisms of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, the applications of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid in drug delivery systems were systematically summarized in this paper, which could provide reference for the further study of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid as excipients of drug delivery systems.

Key words: glycyrrhizic acid; glycyrrhetic acid; antitumor activity; drug delivery systems; excipient

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflate* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根茎, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药等功能, 主含皂苷类、黄酮类、多糖类^[1-2]等成分。其中, 皂苷类成分主要包

括甘草酸 (glycyrrhizic acid, GL, 图 1-A) 与甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA, 图 1-B), 均属齐墩果烷型五环三萜皂苷, 具有抗炎、抗癌、抗菌等作用^[3-5]。研究发现, GL、GA 具有皂苷类两亲性物质的结构特点, 能与细胞膜上胆固醇或磷脂相互作

收稿日期: 2019-10-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903557); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20190802); 江苏省高等学校自然科学基金项目 (19KJB350003); 2019 年江苏省科协青年科技人才托举工程资助项目

作者简介: 王若宁 (1990—), 女, 博士, 讲师, 从事中药新剂型、新技术、新工艺研究。E-mail: ruoningw@163.com

*通信作者 李俊松 (1964—), 男, 博士, 研究员, 从事中药新剂型、新技术、新工艺研究。Tel: 15951867613 E-mail: lijunsong1964@163.com

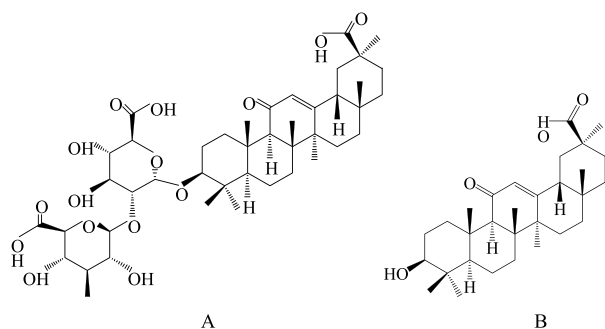


图 1 甘草酸 (A) 和甘草次酸 (B) 的结构

Fig. 1 Structures of glycyrrhizic acid (A) and glycyrrhetic acid (B)

用, 因此其可以作为药物跨膜运输的理想载体材料^[6-11]。本文主要对 GL、GA 的抗肿瘤机制、其作为药物递送系统的运输机制及应用进行综述, 为基于 GL、GA 的药物递送系统发展提供参考依据。

1 GL 与 GA 抗肿瘤作用及其机制

肿瘤发生与细胞增殖、凋亡调控等密切相关, 凋亡机制的异常可能是肿瘤发生的重要原因。研究发现, GL、GA 主要通过调控细胞周期、凋亡信号等机制发挥抗肿瘤作用。

1.1 对白血病细胞的抑制作用

白血病是一类造血干细胞恶性克隆性疾病, 与细胞异常增殖、自噬、凋亡等密切相关^[12]。GL 是一种理想的白血病治疗药物, He 等^[13]发现 100 mg/kg GL 能下调人血液白血病细胞 (TF-1) 中蛋白激酶 B (Akt)、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、信号转导与转录激活子 3 (STAT3) 磷酸化水平, 可通过阻断 Akt/mTOR/STAT3 信号通路抑制体内肿瘤细胞生长。Chueh 等^[14]研究了 GL 对小鼠白血病细胞 WEHI-3 的抗白血病作用, 结果表明 GL 能促进细胞系中凋亡诱导因子 (AIF)、细胞色素 C、内切酶 G 的转运, 提高活性氧 (ROS) 含量, 刺激半胱天冬酶-3 (caspase-3) 活性, 进而引起 G₀/G₁ 细胞周期阻滞、肿瘤细胞形态学改变, 促进其凋亡。Pirzadeh 等^[15]采用流式细胞术观察到 GA 能以剂量依赖的方式上调人白血病细胞 HL-60 表面 CD95 和 CD178 的表达, 引起细胞凋亡。张金玲等^[16]采用 MTT 法、明胶酶谱法及 Transwell 小室基质凝胶侵袭实验, 证明 GA 能下调白血病细胞 (K562、HL-60) 明胶酶 A、B 的活性, 从而抑制 K562、HL-60 细胞增殖。

1.2 对肝癌细胞的抑制作用

肝癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 死亡率极高, 严重威胁人类生命健康。其发生机制与原癌

基因突变及肿瘤抑制基因异常有关。Zhang 等^[17]提出 GL 的抗癌作用可能与其诱导癌细胞自噬有关。在 GL 诱导的肝癌细胞 (HepG2、MHCC97-H) 自噬和细胞毒性研究中发现, Akt/mTOR 信号通路受到抑制, 细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2) 活性得到增强, 进而抑制肿瘤细胞生长。Tang 等^[18]通过细胞自噬染色检测试剂盒 (MDC) 法分析发现, GA 能通过激活 ERK、增加乳酸脱氢酶释放, 降低了肝癌细胞 (HCC) 的活力, 引起 HCC 保护性自噬, 诱导细胞凋亡。张韞琪等^[19]利用 GA 处理 4 种不同增殖速率的肝癌细胞 (SMMC-7721、SK-HEP1、HEPG2、HEP3B), 发现 GA 能剂量依赖性地抑制上述 4 种肝癌细胞的体外增殖, 增殖率与细胞内 ERK 的磷酸化、拓扑异构酶 II α 的表达呈正相关。Kuang 等^[20]研究表明 GA 通过减少 T 细胞凋亡及调节性 T 细胞的表达, 来逆转肝星状细胞 (HSCs) 介导的免疫抑制作用, 从而增强 T 细胞攻击肿瘤细胞和减弱肝癌细胞侵袭的能力。此外, 还利用免疫功能正常的 C57BL/6 小鼠的肝癌原位移植模型验证了 GA 可通过减少肿瘤微环境中 HSCs 介导的免疫抑制, 进而控制肝癌的发生。

1.3 对肺癌细胞的抑制作用

肺癌死亡率高, 发病机制尚不明确, 可能与癌基因、抑癌基因突变导致肺部形成肿块有关。Wu 等^[21]认为 GL 可能通过降低高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 上游调控因子 Janus 激酶/信号转导与转录激活子 (JAK/STAT) 的活性, 抑制癌细胞迁移, 从而控制人源性肿瘤组织异种移植 (PDX) 小鼠的肺肿瘤细胞生长。Huang 等^[22]观察 GL 作用后血栓素合成酶 (TxAS) 转染的肺癌细胞的生长情况, 发现 GL 对 TxAS siRNA 转染的肺癌细胞 (A549) 的生长没有抑制作用, 而对 TxAS cDNA 转染的肺癌细胞 (NCI-H23) 的生长有抑制作用, 说明 GL 的抗肺癌作用至少部分依赖于 TxAS。Zhu 等^[23]提出 GA 能抑制人非小细胞肺癌细胞 (A549、NCI-H460) 的增殖, 其机制可能是通过上调细胞周期素依赖性激酶抑制剂 (CKIs, p18、p16、p27、p21)、抑制细胞周期蛋白 (cyclin D1、D3、E) 和周期素依赖性激酶 (CDKs) 来介导细胞周期 G₁ 阻滞; 通过保持细胞周期调控蛋白 (pRb) 的磷酸化状态, 抑制核转录调节因子 E2F-1, 上调未折叠蛋白 Bip、PERK、ERP72 的表达以及内质网中未折叠蛋白的积累触发了未折叠蛋白反应 (UPR), 从而抑制非小细胞肺癌 NSCLC 细胞增殖。Song 等^[24]认为 GA 通过抑制

NCI-H460 细胞中蛋白激酶 B (PKC) α/β II 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 的活化进而诱导细胞凋亡; 并通过抑制 TxAS 及其启动的 ERK/环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 (CREB) 信号通路来抑制 NSCLC 细胞的增殖。

1.4 对结肠癌细胞的抑制作用

结肠癌是消化系统中常见的恶性肿瘤, 发病机制复杂。研究表明口服 GL 能降低抗原 Ki-67、核转录因子- κ B (NF- κ B)、增殖细胞核抗原 (PCNA)、环氧合酶-2 (COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达, 同时可增强 p53、间隙连接蛋白-43、Bcl-2 蛋白、caspase-3 的表达, 对 1,2-二甲胂诱导的结肠癌发生具有化学预防作用^[25-26]。根据在癌细胞中激活磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K) / Akt 信号通路可提高癌细胞存活率、生长率并诱导细胞迁移, Wang 等^[27]研究了 GA 对大肠癌细胞 (LoVo、SW480、SW620) 的影响, 发现 GA 可通过抑制该信号通路的激活, 下调凋亡抑制基因 (survivin)、基质金属蛋白酶 (MMP) 的表达, 从而抑制癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

1.5 对乳腺癌细胞的抑制作用

研究表明, GL、GA 对人乳腺癌具有抑制作用, 其主要机制涉及细胞凋亡、通路阻断等。Lin 等^[28]发现 GL 通过 ROS-线粒体途径诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡和自噬。高砚春等^[29]采用半定量逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR), 发现随 GL 浓度增加和作用时间延长, MDA-MB-231 细胞中 Fas、survivin、Bax、caspase-3 基因表达降低, Bcl-2 基因表达上升。Fas、survivin、Bax、caspase-3、Bcl-2 等基因均与细胞凋亡、增殖关系密切。Survivin 是细胞凋亡抑制因子, 能够阻止 Fas 介导的细胞凋亡; Bcl-2 是抑制细胞凋亡的特异性基因, 可阻止激活或抑制与凋亡相关的基因表达; Bax 对 Bcl-2 有拮抗作用, 促进细胞凋亡。该研究证明 GL 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖抑制作用强, 且具有明显的量效和时效关系。Wang 等^[30]研究发现 GA 能特异性抑制 p38 MAPK 的活性及其下游激活蛋白-1 (AP1) 的活化能力, 抑制乳腺癌细胞 MMP-2/MMP-9 表达, 下调乳腺癌细胞中 AP1 转录复合物两大主要成分 (Fra-1、c-Jun) 的表达, 表明 GA 能通过破坏 p38 MAPK-AP1 信号通路抑制乳腺癌细胞的侵袭。Sharma 等^[31]研究发现 GA 介导的线粒体死亡级联反应对乳腺癌 MCF-7 细胞的生长产生抑制作用, 主要表现为磷脂酰丝氨酸外化、DNA 片段

化、线粒体膜电位丢失、细胞色素 C 释放及 caspase-9 活化。研究发现, GA 通过活化 caspase 和调控 Akt/FOXO3a (由 FOXO3 基因编码的人类蛋白质) 通路诱导 MCF-7 细胞凋亡。

1.6 对卵巢癌细胞的抑制作用

卵巢癌是致死率最高的女性生殖系统疾病, 研究表明, GL、GA 对卵巢癌具有一定抑制作用。Takeuchi 等^[32]发现 GL、GA 能显著降低睾酮的分泌, 影响 4-雄烯二酮与睾酮的转化, 刺激芳香化酶活性, 促进雌二醇合成, 可用于缓解卵巢机能不全或卵巢激素不足引起的如功能性子宫出血、原发性闭经等卵巢癌早期潜在症状。Haghshenas 等^[33]通过人卵巢癌细胞 A2780 的体外细胞毒性实验, 发现 GA 以剂量依赖性的方式上调 A2780 细胞的 Fas 和 FasL 水平, 诱导 A2780 细胞凋亡。GA 可通过对线粒体介导的细胞死亡通路的激活, 增强曲古菌素 A 对卵巢癌细胞的促凋亡作用^[34]。Yang 等^[35]发现 GA 能通过激活 caspase-8 及线粒体介导的细胞死亡通路, 增强对热休克蛋白 90 (Hsp90) 的抑制作用, 诱导卵巢癌细胞凋亡, 有助于卵巢上皮腺癌的治疗。

1.7 对其他癌症细胞的抑制作用

GL、GA 在其他癌症中也发挥重要作用, 在各种信号通路中占有重要地位。GL 能抑制人胶质母细胞瘤 U251 细胞增殖并诱导细胞凋亡, 其可能与 NF- κ B 介导的通路有关^[36]。GL 呈剂量依赖性地降低宫颈癌 HeLa 细胞活力, 可作为一种辅助手段用于宫颈癌治疗^[37]。GA 能通过内质网膜蛋白肌醇酶 1 (IRE1) -JNK 通路诱导内质网应激刺激细胞自噬, 降低肉瘤生长, 且对其他器官几乎没有毒性^[38]。Cai 等^[39]发现 GA 能上调 E-钙黏素 (E-cadherin) 表达, 下调波形蛋白表达, 以剂量依赖性的方式抑制 MMP-2、MMP-9 的活性, 抑制 ROS 的生成、PKC 的表达和 ERK 的磷酸化, 通过 ROS/PKC- α /ERK 信号通路抑制胃癌细胞的迁移和侵袭。

2 GA 与 GL 作为药物递送系统的机制

2.1 直接跨膜的递送机制

大量研究表明^[40], 经 GL、GA 修饰的新型药物制剂能显著增加药物的溶解度和生物利用度, 在病变部位的高度积累可能与其直接跨膜作用密切相关。Nicol 等^[41]利用 α -常春藤皂苷 (α -hederin) 包载聚集诱导发光 (AIE) 材料进行体内递送, 发现 AIE 能够被细胞高效快速地摄取。同时, Nicol 等^[42]制备了包载 AIE 的皂苷 (quillaja) 纳米粒, 发

现其能够穿过以阿拉伯芥为植物模型的细胞壁并定位在质膜上。Wang 等^[43]将鬼臼毒素(podophyllotoxin)封装于 GL 胶束,可增加药物在表皮细胞内的分散。由此可见,皂苷作为载体递送药物可与细胞膜产生相互作用。皂苷的跨膜特性与其两亲性结构相关,皂苷能与细胞膜上的胆固醇或磷脂相互作用,引起脂质流动性变化,诱导孔隙形成,增加细胞膜渗透率^[9]。皂苷与膜相互作用具有浓度依赖性,当浓度小于临界胶束浓度(CMC)时,皂苷单体将嵌入并结合到膜外层的甾醇;当浓度高于 CMC 时,皂苷将直接诱导膜孔的形成,导致膜电位的暂时丧失,表明胶束(或聚集体)能直接与膜相互作用,并向膜附近释放大量皂苷(图 2)。Selyutina 等^[6]采用动态核磁共振和分子动力学模拟实验研究 GL 与 POPC 脂质体、模型双层膜(DPPC、DOPC)的相互作用,结果表明 GL 能穿透脂质双分子层,引起脂质流动性变化,促使形成孔隙。Shelepova 等^[8]采用分子动力学模拟发现 GL 与脂质双层膜中胆固醇结合,在膜中诱导产生孔隙,引起膜通透性增强。Fu 等^[44]揭示了 GL 通过激活人源脂类外向转运蛋白(ABCA1),诱导脂筏胆固醇流出,降低脂筏胆固醇含量。

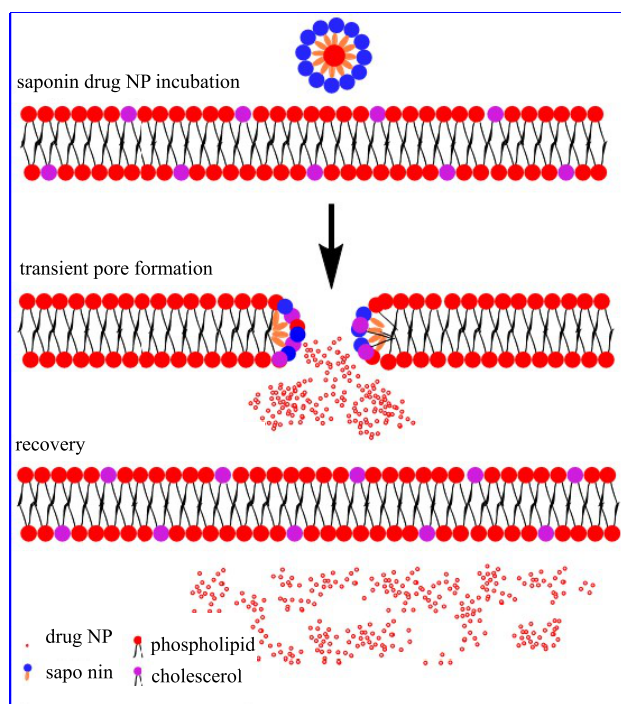


图 2 皂苷直接跨膜机制递送示意图

Fig. 2 Schematic diagram of direct transmembrane delivery of saponins

GL、GA 可引起膜通透性从而增强促膜渗透,但其同时也有可能溶血。皂苷的溶血与促细胞膜渗透作用有一定关联性,两者的作用机制有共同点,都可通过与细胞膜上的胆固醇结合而产生溶血^[45]。实验结果表明在一定条件下 GL、GA 依然安全可靠,并不会发生溶血。杜洪亮^[46]通过控制投料比,制备出不同浓度和不同 GA 取代度的低相对分子质量肝素(LMWH-GA)聚合物胶束。结果显示,聚合物的溶血程度随 GA 取代度的增加而增大,且呈现出浓度依赖性。当质量浓度为 1、2 mg/mL 时,溶血比率分别为 1.61%、4.32%。且 GA 取代度为 7.47 的聚合物促红细胞溶血率低于 5%,符合国家静脉注射标准^[47]。因此,合理控制 GA 与 GL 浓度和取代程度,可安全用于药物递送领域。利用皂苷直接跨膜的递送机制开发其为药物载体,将成为未来药剂发展的研究重点。

2.2 靶向递送机制

靶向给药系统是指载体将药物通过局部给药或全身血药循环而选择性地浓集或接近靶细胞或细胞内结构、靶组织、靶器官的给药系统。部分药物载体在药物递送过程中易受生理环境中各种酶、组织等影响,通过对其进行修饰,可改善载体的靶向性、稳定性,提高载体进入病变部位的深度及效率,同时也能减少药物对其他正常细胞或器官的毒副作用。Negishi 等^[48]首次发现大鼠肝细胞膜上含有 GA 结合位点,该结合位点可能是蛋白质属性。研究表明,GA 在肝实质细胞膜上的结合位点可能为蛋白激酶 Ca , 而该蛋白激酶在肝肿瘤细胞中高表达,是正常肝细胞的 1.5~5 倍^[49-50]。Ishida 等^[51]证实了大鼠肝细胞表面有 GL 的特异性结合位点,且证实 GL 通过大鼠静脉注射后,可迅速被肝脏摄取。基于 GL、GA 受体的特异性识别能力及自身对正常肝组织的保护作用,经其修饰后的药物具有显著肝靶向能力,通过靶向诱导肝癌细胞凋亡,几十年来被很多国家和地区用于肝脏相关疾病的治疗^[48,52]。以 GL、GA 为载体材料的药物递送系统具有广泛的应用前景^[53-55]。

3 GL 与 GA 在药物递送系统中的应用

纳米药物递送系统是药剂工作者研究的热点,作为新型药物递送系统,其虽在一定程度上可通过增加药物溶解度、提高渗透性等方式来提高药物传递效率,但目前该药物传递系统的设计仍存在不足。由于人体内环境复杂,若让药物有效到达靶组织,则需克服血液、组织、细胞等多重生理病理屏障等^[56-57]。

因此,运用新型功能性载体材料或针对性地对其进行化学修饰,已成为新型药物递送系统设计的突破点。然而目前药物载体材料的开发及化学修饰的研究中,大多以人工合成分子为主,均存在一定缺陷。这些新材料或新分子本身需经过严格的临床试验和最终的 FDA 批准才能用作新辅料,会耗费大量时间精力,且它们在生物相容性和安全性等方面无法与天然物质相媲美。因此,发现及开发合适的天然药物载体将成为未来药剂学的研究热点与重点。

GL、GA 作为天然药物活性成分具有药理活性及载体开发潜力,使其在药物递送领域变得炙手可热。与其他疗效和安全性未知的生物材料不同, GL 已被证实是安全无毒的生物材料; GA 作为其代谢产物,有许多与 GL 相似的药理作用。二者毒性低、生物活性高且具有一定的靶向性,因此,将其开发成抗肿瘤药物递送的载体材料,能够为新型药物递送设计带来曙光。本文总结和归纳了由 GL、GA 修饰的 3 类药物递送系统的体内外药效学研究进展,见表 1。

表 1 GL 和 GA 作为药物递送系统的体内外药效学评价

Table 1 Pharmacodynamic evaluation of glycyrrhizic acid and glycyrrhetinic acid as drug delivery systems *in vitro* and *in vivo*

递送系统	载体材料	负载药物	体外药效评价					体内药效评价			参考文献
			细胞模型	IC ₅₀ 值(μg·mL ⁻¹)	包封率/%	载药量/%	药效	动物模型	给药途径	药效	
纳米粒	GA/透明质酸	阿霉素	人肝癌 HepG2 细胞	5.75	92.40	33.90	细胞摄取表明肝癌细胞对纳米粒有亲和力	皮下荷瘤 (H22) 昆明小鼠	iv	肿瘤部位药物积累量↑, 抑瘤率↑	58
	GA/壳聚糖	5-氟尿嘧啶	人肝癌 SMMC-7721 细胞	2.05	—	—	抑制肿瘤细胞活性, IC ₅₀ 值↓	原位荷瘤 (H22) BALB/c 小鼠	iv	抑瘤率↑, 生存时间↑	59
	GA/壳聚糖/聚乙二醇	阿霉素	人肝癌 QGY-7703 细胞	0.079	—	—	细胞摄取↑	皮下荷瘤 (H22) BALB/c 裸鼠	iv	肿瘤部位药物积累量↑, 抑瘤率↑	60
	GL/白蛋白	10-羟喜树碱	人肝癌 SMMC-7721 细胞	0.78	57.50	2.21	细胞摄取↑, IC ₅₀ 值↓	—	—	—	61
	GL/O-羧甲基壳聚糖	紫杉醇	人肝癌 SMMC-7721 细胞	2.70~3.20	83.70	14.90	抑制肿瘤细胞活性	皮下荷瘤 (H22 腹水瘤) 昆明小鼠	iv	肿瘤部位药物积累量↑, 抑瘤率↑	62
聚合物胶束	GL	紫杉醇	—	—	90.20	7.90	缓释性能↑	SD 雄性大鼠	口服	生物利用度↑	63
	GL	鬼臼毒素	—	—	78.50	7.29	—	腹腔皮肤切除 SD 大鼠	经皮给药	药物在表皮分布↑	43
	GA/壳聚糖/碳二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺	阿霉素 (DOX)、姜黄素 (CCM)	人肝癌 HepG2 细胞	2.256 (DOX)、4.032 (CCM)	90.90 (DOX)、70.70 (CCM)	19.80 (DOX)、8.90 (CCM)	细胞摄取↑	—	—	—	64
	GA/聚乙二醇/聚乳酸聚乙醇酸共聚物	穿心莲内酯	人肝癌 Hep3B 细胞	3.57 μmol·L ⁻¹	89.60	9.10	与肝癌细胞的结合能力↑	非原位荷瘤 (HCC) BALB/c 裸鼠	iv	抑瘤率↑	65
	GA/聚乙二醇/碳二亚胺	紫杉醇	人肝癌 HepG2 细胞	0.20	—	—	与肝癌细胞的结合能力↑	—	—	—	66
	GA/透明质酸	阿霉素	人肝癌 HepG2 细胞	1.46	91.43	8.64	细胞摄取↑, IC ₅₀ 值↓	皮下荷瘤 (H22) BALB/c 雌鼠	iv	抑瘤率↑	67
脂质体	GA/大豆磷脂/胆固醇	丹酚酸 B (Sal B)、丹参酮 II _A (TSN)	人肝星状细胞 (HSCs)	—	96.03 (Sal B)、80.63 (TSN)	—	对 HSCs 增殖抑制↑	—	—	—	68
	GA/大豆磷脂/胆固醇	多西他赛	人肝癌细胞 (SMMC-7721、HepG2)	2.6	>95	—	细胞摄取↑	皮下荷瘤 (SMMC-7721) BALB/c 裸鼠	iv	抑瘤率↑	69
	GA/十八烷脂/卵磷脂	姜黄素	人肝癌 HepG2 细胞	—	98.26	3.93	抑制 HepG2 增殖↑, 抑制肿瘤生长↑	皮下荷瘤 (H22) 昆明雄鼠	iv	系统毒性↓, 抑瘤率↑	70
	GA/卵磷脂/胆固醇	钙黄绿素	雄性 Wistar 大鼠正常肝脏中分离的肝细胞	—	—	—	缓释性能↑	—	—	—	71
	GA/大豆磷脂/胆固醇	汉黄芩素	人肝癌 HepG2 细胞	2.292	—	—	药物吸收量↑, IC ₅₀ 值↓	—	—	—	72

“—”表示文献未提及;“↑”表示增加;“↓”表示作用降低;“iv”表示静脉注射;“HCC”表示人原发性肝癌

“—” not mentioned in literatures; “↑” increase; “↓” reduce; “iv” intravenous injection; “HCC” human hepatocellular carcinoma

3.1 纳米粒的修饰

在药物传输领域系统一般将纳米粒的尺寸界定在 $1\sim 1\,000\text{ nm}^{[73]}$ 。其粒径小、分散度大,能显著增加药物溶解度,提高难溶性药物的生物利用度。但由于纳米粒比表面积大、表面原子数多、表面能高,使得这些表面原子具有很高的活性,极不稳定,纳米粒在制备、储存以及使用过程中便容易发生团聚或与其他物质发生吸附而失活,因此对纳米粒进行表面修饰尤为重要。此外,为了改善纳米粒的靶向性,也极有必要对其进行修饰,使药物载体能将药物定向地运送到靶组织并发挥药效。

3.1.1 白蛋白(BSA)纳米粒 BSA 是一种主要来源于血液的内源性大分子,一级结构中有大量的氨基酸残基,为一些小分子(配体)提供结合位点。其具有无毒性、生物可降解性等优良特性,常被选作药物载体,目前,已有上百种药物以牛血清 BSA 为载体被用于药物运输。研究发现,经 GL 修饰的牛血清 BSA 具有更好的靶向性和稳定性,能显著增加细胞内药物浓度。Mao 等^[74]用 GL 修饰钙素负载的牛血清 BSA 纳米粒(Cal-BSA-NP-GL),发现 Cal-BSA-NP-GL 对大鼠肝细胞摄取量为无 GL 修饰的纳米粒(Cal-BSA-NP)的 4.43 倍。Zu 等^[61]利用高压均质乳化法制备 GL 偶联 BSA 纳米粒荷载 10-羟喜树碱(HCPT)(GL-BSA-HCPT-NPs),结果显示 GL-BSA-HCPT-NPs 水溶液稳定性良好,具有肝癌细胞靶向性且有缓控释效果。He 等^[75]制备了 GA 修饰的 BSA 纳米粒负载恩替卡韦(ETV-GA-AN),发现 GA 修饰的纳米粒显著增加了恩替卡韦在肝癌细胞中的蓄积,并能够抑制特定外排转运体的活性。

3.1.2 壳聚糖(CS)纳米粒 CS 是甲壳素脱乙酰化得到的产物,是自然界天然多糖中唯一的碱性多糖,具有环保无毒、来源丰富、生物相容性好等优点,被广泛用作新型给药系统的载体材料。但 CS 仅能溶于酸性溶液,应用受到较大限制,故有必要对 CS 进行功能化修饰来扩大其应用范围。壳聚糖结构中 C-2 位氨基和 C-3、6 位羟基是主要的修饰位点,可分别引入聚乙二醇、羧甲基、季铵盐等亲水基团和长链烷基、酰基、芳基等疏水基团制成两亲性聚合物。因在水溶液中可自组装形成特殊的壳状结构纳米粒,故可用作难溶性药物、生物大分子蛋白质等的递送载体,提高药物功效^[76]。通过在 CS 表面接枝 GL,制备出了由 GL 修饰的 CS 纳米粒(CS-NPs-GL),其包封率(91.7 ± 3.2)%比 CS-NPs

(65.5 ± 2.1)%更高,且呈现出更慢的体外释放速率。通过荧光标记该纳米粒,结果显示 CS-NPs-GL 能优先聚集在肝细胞,且在肝实质细胞中摄取率是非实质细胞的 4.9 倍^[77]。O-羧甲基壳聚糖经 GL 修饰后制成的纳米粒包裹紫杉醇(PTX)能够保护药物的稳定性,延长药物在体内的循环时间,有效提高药物利用度^[62]。GA 修饰后的硫酸壳聚糖包载阿霉素(DOX)胶束(DOX/SA-SCTS)对肝癌 HepG2 细胞的亲和力比正常肝细胞(人张氏肝细胞)高近 2.18 倍^[78]。Chen 等^[79]发现 GA 偶联的硬脂酸接枝壳聚糖(GA-CS-SA)的 CMC (17.49 mg/mL)比硬脂酸接枝壳聚糖(CS-SA)的 CMC (23.20 mg/mL)低,说明 GA-CS-SA 胶束核-壳结构更为稳定,是极具潜力的抗癌药物载体。

3.1.3 透明质酸(HA)酸纳米粒 HA 是一种在生命体中天然存在的线性大分子黏多糖,具有良好的生物相容性、生物可降解性和肿瘤靶向性,因而其作为药物递送载体的研究非常广泛。为了提高水飞蓟宾的口服生物利用度和肝脏靶向给药能力,Han 等^[80]设计合成了透明质酸-己二酰肼-脱氧胆酸(HA-adh-DOCA)和透明质酸-己二酰肼-甘草次酸(HA-adh-GA)2 种两亲性 HA 衍生物。2 种载药胶束的血药时间曲线下面积较混悬剂相比更大,表明前者进入体内循环的药物相对量更大,即制剂中的药物被生物体吸收越完全。以包载的近红外荧光染料(DiR)为指示剂,通过荧光成像分析胶束在经 CCl_4 诱导的急性肝损伤小鼠体内的生物分布。根据荧光成像,在测试的各个时间点,HA-adh-GA 胶束在肝脏中均表现出比 HA-adh-DOCA 胶束更强的荧光信号,表明含 GA 的胶束可以辅助水飞蓟宾靶向肝脏器官,以提高水飞蓟宾的保肝作用。Wang 等^[81]制备了负载 DOX 的透明质酸-甘草次酸琥珀酸偶联纳米粒(HSG/DOX),发现其可延长 DOX 的血液循环时间,显著增加药物的积累并降低肝脏和肾脏毒性。

3.1.4 两亲性聚合物 Ma 等^[82]合成了一种两亲性均聚物聚甘草酸(PGly),该均聚物乳液的粒径分布和分散状态可以通过 pH ($2.0\sim 5.0$)进行可逆调节,具有良好的表面活性和多种 pH 响应性,其在农药制剂的控释和有机污染的回收方面具有广阔的应用前景。Yang 等^[83]制备了一种经 GA 修饰的聚乙二醇(PEG)衍生聚合物前药胶束(PEG-Fmoc-GA),发现 PEG-Fmoc-GA 聚合前药胶束与 DOX 合用可抑制和诱导细胞凋亡,促进细胞内 DOX 的摄取并显

著增加血液循环时间。Huang 等^[84]制备出 GA 修饰的负载 DOX 的 PEG 聚合氨基酸苄酯 (PBLG) 胶束, 发现 DOX/GA-PEG-PBLG 胶束在肝脏中相对摄取远大于其他组织, DOX 浓度约为未修饰胶束的 2.2 倍。Chen 等^[85-86]制备了 GA-聚乙二醇-接枝聚乳酸-共乙醇酸聚合物胶束 (GA-PEG-SS-PLGA), 结果表明经 GA 修饰的聚合物胶束通过上调细胞内 ROS 水平、增加细胞 S 期阻滞、上调 P38 蛋白表达, 对 HepG2 细胞具有促凋亡作用。Zhu 等^[87]用 GA 修饰的 D-α-生育酚琥珀酸聚乙二醇 1000 聚合物胶束 (TGA PMs) 运输依托泊苷 (ETO), 发现 GA 修饰的聚合物胶束能更多地在肝癌细胞中表达。Zhang 等^[88]发现经 GA 修饰的转录反式激活剂 (TAT) 和 pH 敏感性聚 β-氨基酯聚合物胶束能更多地在肝部位积累。Liu 等^[89]制备了用聚乙二醇和 GA 修饰的氧化石墨烯 (GO-PAMAM-GA), 发现经过 GA 修饰的聚合物具有更强的生物相容性和靶向能力。

3.2 纳米粒的稳定剂

药物的治疗效果与纳米粒的稳定性具有很大联系, 研究表明, GL 能在 0.01~1 mmol/L 低浓度范围内形成二聚体, 在 1 mmol/L 浓度之上形成胶束^[90]。GL 修饰的纳米粒具有良好的稳定性, 可用于包载多种药物。GL 修饰的壳聚糖-阿拉伯树胶聚合物纳米粒具有更好的稳定性^[91]。Chen 等^[92]用难溶性药物穿心莲内酯 (AGE) 为模型药物, 以 GL 为天然稳定剂, 采用高压均质法制备了平均粒径为 487 nm 的 AGE 纳米混悬剂 (AGE-NS), 并用冷冻干燥法将其转化为干燥的 AGE 纳米混悬剂粉末 (AGE-NP)。结果表明, GL 能防止纳米晶体聚集, 冻干后的 AGE-NP 易再分散到 AGE-NS。这与 GL 的特殊界面性质和静电效应 [(-43.6±0.9) mV] 有关, 能将 AGE 纳米晶体包覆到其网络结构中。粉末 X 射线衍射结果表明, GL 不改变 AGE 的结晶状态。经 GL 修饰的 AGE 纳米粒 (AGE-NP/GL) 的溶出度 (99.87%) 明显高于粗粒 AGE (42.35%), 表明 GL 可作为一种新型的多功能药物纳米混悬剂稳定剂, 为进一步研制难溶性药物提供了良好的基础。Qiu 等^[93]利用环糊精 (CD) 和 GL 成功制备了新型复合纳米乳 (CD-MOF/GL), 通过核磁共振证明该乳液在高碱性和高温条件下均表现出良好的稳定性。GA 修饰的纳米乳剂具有良好的皮肤渗透性^[94]。

3.3 包合物

包合物系指一种分子被全部或部分包合于另一

种分子的空穴内形成的特殊络合物, 药物经包合能增效减毒、提高稳定性和生物利用度。钙通道阻滞剂硝苯地平 (NF) 被 GL 络合后形成的复合物具有很好的稳定性^[95]。Wang 等^[43]采用超声法制备了 GL 包载的鬼臼毒素 (POD), 发现经 GL 包封的 POD 能减少白细胞侵袭和炎症因子 (IL-6、TNF-α) 的表达, 且其在皮肤的累积量 [(24.37±0.97) μg/cm²] 高于 POD 酊剂 [(20.07±1.02) μg/cm²]。Lin 等^[68]采用薄膜水化法将 GA、丹参酮 II_A (TSN)、丹酚酸 B (Sal B) 共包入脂质体 (GTS-Lip), 发现 GTS-Lip 能抑制肝星状细胞的增殖。

3.4 其他

Tong 等^[96]以 GL、藻酸盐和钙为原料, 制备了一种可降解的原位注射水凝胶用于三维细胞培养, GL 作为修饰剂、调节剂能辅助水凝胶较长时间维持细胞的活力。GA 的 C-3 位和 C-30 位经过一定的修饰, 能与 β-环糊精共价耦合, 得到的偶联物具有良好抗病毒活性, 并可作为一种先导化合物用于开发潜在抗流感病毒药物^[97]。Singh 等^[98]合成了一种经 GA 修饰的小分子结合物, 用于 pH 触发的近红外 (NIR) 荧光成像检测肝癌。该结合物被称为 NIR-GA, 主要定位于溶酶体。在酸性介质中, NIR-GA 能在 NIR 区产生强荧光, 可通过 GA 受体介导的内吞途径被肝癌细胞系 (HepG2、Huh7) 有效摄取而不影响细胞活性。

4 结语与展望

随着技术的发展, 寻找天然药物活性成分实现“药辅合一”的研究工作时不我待。GL、GA 作为甘草提取物的主要活性成分在药理学上表现出广泛的活性。尽管目前对 GL、GA 在抗肿瘤方面的研究已有许多报道, 但大多还只停留在其对肿瘤细胞的直接作用。GA 在水中溶解度虽不理想但其对肝脏有较强的靶向性; GL 虽在胃肠道吸收较少, 有首关效应, 但其作为两亲性物质可与一些难溶性药物联用。基于它们各自的理化性质, 可考虑将 GL、GA 作为递送系统的载体对药物进行递送。

GL、GA 作为载体材料, 不仅安全无毒, 在肿瘤治疗过程中能与其他化疗药物协同发挥抗肿瘤作用。GL、GA 可通过不同机制抑制肿瘤细胞生长, 它们的作用靶点出现于多种癌细胞, 其为 GL、GA 与核心治疗药物的选择性搭配提供了可能性。由 GL、GA 修饰的药物递送系统或它们与抗癌药物形成的复合物, 相比传统的游离药物或普通剂型而言,

大多在体内外都能表现出更低毒副作用及更强的药效。其有望被开发为药辅合一的药物递送系统,进一步提高药物的生物利用度及治疗活性。但目前阶段,对甘草酸、甘草次酸跨膜特性及其作为药物递送系统的作用机制的研究还相对较少,多停留在体外模型,故有待进一步深入研究以探索其丰富的药物载体性能,发挥更大作用,为药物递送系统研究提供依据。

参考文献

- [1] Zhang X, Zhao S, Song X, *et al.* Inhibition effect of glycyrrhiza polysaccharide (GCP) on tumor growth through regulation of the gut microbiota composition [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 137(4): 324-332.
- [2] Chen J, Jin X, Chen J, *et al.* Glycyrrhiza polysaccharide induces apoptosis and inhibits proliferation of human hepatocellular carcinoma cells by blocking PI3K/AKT signal pathway [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1381-1389.
- [3] Wang L, Yang R, Yuan B, *et al.* The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(4): 310-315.
- [4] Kao T C, Wu C H, Yen G C. Bioactivity and potential health benefits of licorice [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(3): 542-553.
- [5] Baltina L A. Chemical modification of glycyrrhizic acid as a route to new bioactive compounds for medicine [J]. *Curr Med Chem*, 2003, 10(2): 155-171.
- [6] Selyutina O Y, Apanasenko I E, Kim A V, *et al.* Spectroscopic and molecular dynamics characterization of glycyrrhizin membrane-modifying activity [J]. *Coll Surface B*, 2016, 147: 459-466.
- [7] Gilabert O R, Mergel K, Thakur M, *et al.* Real-time analysis of membrane permeabilizing effects of oleanane saponins [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(8): 2387-2395.
- [8] Shelepova E A, Kim A V, Voloshin V P, *et al.* Intermolecular voids in lipid bilayers in the presence of glycyrrhizic acid [J]. *J Phys Chem B*, 2018, 122(43): 9938-9946.
- [9] Selyutina O Y, Polyakov N E, Korneev D V, *et al.* Influence of glycyrrhizin on permeability and elasticity of cell membrane: Perspectives for drugs delivery [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(3): 858-865.
- [10] Fiore C, Salvi M, Palermo M, *et al.* On the mechanism of mitochondrial permeability transition induction by glycyrrhetinic acid [J]. *BBA-Bioenergetics*, 2004, 1658(3): 195-201.
- [11] Lee C S, Kim Y J, Lee M S, *et al.* 18 β -Glycyrrhetinic acid induces apoptotic cell death in SiHa cells and exhibits a synergistic effect against antibiotic anti-cancer drug toxicity [J]. *Life Sci*, 2008, 83(13/14): 481-489.
- [12] Auberger P, Puissant A. Autophagy, a key mechanism of oncogenesis and resistance in leukemia [J]. *Blood*, 2017, 129(5): 547-552.
- [13] He S Q, Gao M, Fu Y F, *et al.* Glycyrrhizic acid inhibits leukemia cell growth and migration via blocking AKT/mTOR/STAT3 signaling [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5175-5181.
- [14] Chueh F S, Hsiao Y T, Chang S J, *et al.* Glycyrrhizic acid induces apoptosis in WEHI-3 mouse leukemia cells through the caspase- and mitochondria-dependent pathways [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(6): 2069-2076.
- [15] Pirzadeh S, Fakhari S, Jalili A, *et al.* Glycyrrhetinic acid induces apoptosis in leukemic HL60 cells through upregulating of CD95/CD178 [J]. *Int J Mol Cell Med*, 2014, 3(4): 272-278.
- [16] 张金玲, 刘新月, 邹萍. 甘草次酸对白血病细胞侵袭力及明胶酶活性的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(10): 903-906.
- [17] Zhang X, Yang H, Yue S, *et al.* The mTOR inhibition in concurrence with ERK1/2 activation is involved in excessive autophagy induced by glycyrrhizin in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(8): 1941-1951.
- [18] Tang Z H, Li T, Chang L L, *et al.* Glycyrrhetinic acid triggers a protective autophagy by activation of extracellular regulated protein kinases in hepatocellular carcinoma cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(49): 11910-11916.
- [19] 张焜琪, 蔡云, 刘媛, 等. 甘草次酸选择性抑制肝癌细胞的增殖 [J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(04): 477-482.
- [20] Kuang P, Zhao W, Su W, *et al.* 18 β -Glycyrrhetinic acid inhibits hepatocellular carcinoma development by reversing hepatic stellate cell-mediated immunosuppression in mice [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(8): 1831-1841.
- [21] Wu X, Wang W, Chen Y, *et al.* Glycyrrhizin suppresses the growth of human NSCLC cell line HCC827 by downregulating HMGB1 level [J]. *Biomed Res Int*, 2018, doi: 10.1155/2018/6916797.
- [22] Huang R Y, Chu Y L, Jiang Z B, *et al.* Glycyrrhizin suppresses lung adenocarcinoma cell growth through inhibition of thromboxane synthase [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33(2): 375-388.
- [23] Zhu J, Chen M, Chen N, *et al.* Glycyrrhetinic acid induces G1 phase cell cycle arrest in human nonsmall cell lung cancer cells through endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(3): 981-988.
- [24] Song J, Ko H S, Sohn E J, *et al.* Inhibition of protein kinase C α /beta II and activation of c-Jun NH2-terminal kinase mediate glycyrrhetinic acid induced apoptosis in non-small cell lung cancer NCI-H460 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(4): 1188-1191.
- [25] Khan R, Rehman M U, Khan A Q, *et al.* Glycyrrhizic acid

- suppresses 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumorigenesis in Wistar rats: Alleviation of inflammatory, proliferation, angiogenic, and apoptotic markers [J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33(12): 1272-1283.
- [26] Khan R, Khan A Q, Lateef A, *et al.* Glycyrrhizic acid suppresses the development of precancerous lesions via regulating the hyperproliferation, inflammation, angiogenesis and apoptosis in the colon of Wistar rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): 1-22.
- [27] Wang S, Shen Y, Qiu R, *et al.* 18 β -glycyrrhetic acid exhibits potent antitumor effects against colorectal cancer via inhibition of cell proliferation and migration [J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(2): 615-624.
- [28] Lin S C, Chu P Y, Liao W T, *et al.* Glycyrrhizic acid induces human MDA-MB-231 breast cancer cell death and autophagy via the ROS-mitochondrial pathway [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(2): 703-710.
- [29] 高砚春, 陈 竞, 蔡 燕. 甘草甜素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 生长的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(13): 1210-1213.
- [30] Wang X F, Zhou Q M, Lu Y Y, *et al.* Glycyrrhetic acid potently suppresses breast cancer invasion and metastasis by impairing the p38 MAPK-AP1 signaling axis [J]. *Expert Opin Ther Tar*, 2015, 19(5): 577-587.
- [31] Sharma G, Kar S, Palit S, *et al.* 18beta-glycyrrhetic acid induces apoptosis through modulation of Akt/FOXO3a/Bim pathway in human breast cancer MCF-7 cells [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(5): 1923-1931.
- [32] Takeuchi T, Nishii O, Okamura T, *et al.* Effect of paeoniflorin, glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on ovarian androgen production [J]. *Am J Chin Med*, 1991, 19(1): 73-78.
- [33] Haghsheenas V, Fakhari S, Mirzaie S, *et al.* Glycyrrhetic acid inhibits cell growth and induces apoptosis in ovarian cancer A2780 cells [J]. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4(Suppl 1): 437-441.
- [34] Lee C S, Yang J C, Kim Y J, *et al.* 18beta-Glycyrrhetic acid potentiates apoptotic effect of trichostatin A on human epithelial ovarian carcinoma cell lines [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 649(1/3): 354-361.
- [35] Yang J C, Myung S C, Kim W, *et al.* 18beta-Glycyrrhetic acid potentiates Hsp90 inhibition-induced apoptosis in human epithelial ovarian carcinoma cells via activation of death receptor and mitochondrial pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 370(1/2): 209-219.
- [36] Li S, Zhu J H, Cao L P, *et al.* Growth inhibitory *in vitro* effects of glycyrrhizic acid in U251 glioblastoma cell line [J]. *Neurol Sci*, 2014, 35(7): 1115-1120.
- [37] Farooqui A, Khan F, Khan I, *et al.* Glycyrrhizin induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and cell cycle arrest at G0/G1 in HPV18⁺ human cervical cancer HeLa cell line [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 752-764.
- [38] Shen S, Zhou M, Huang K, *et al.* Blocking autophagy enhances the apoptotic effect of 18 beta-glycyrrhetic acid on human sarcoma cells via endoplasmic reticulum stress and JNK activation [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(9): e3055.
- [39] Cai H, Chen X, Zhang J, *et al.* 18beta-glycyrrhetic acid inhibits migration and invasion of human gastric cancer cells via the ROS/PKC- α /ERK pathway [J]. *J Nat Med*, 2018, 72(1): 252-259.
- [40] Selyutina O Y, Polyakov N E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier-from physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug [J]. *Int J Pharm*, 2019, 559: 271-279.
- [41] Nicol A, Kwok R T K, Chen C, *et al.* Ultrafast delivery of aggregation-induced emission nanoparticles and pure organic phosphorescent nanocrystals by saponin encapsulation [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(41): 14792-14799.
- [42] Nicol A, Wong K, Kwok R T K, *et al.* Uptake, distribution, and bioimaging applications of aggregation-induced emission saponin nanoparticles in *Arabidopsis thaliana* [J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2017, 9(34): 28298-28304.
- [43] Wang Y, Zhao B, Wang S, *et al.* Formulation and evaluation of novel glycyrrhizic acid micelles for transdermal delivery of podophyllotoxin [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(5): 1623-1635.
- [44] Fu Y, Zhou E, Wei Z, *et al.* Glycyrrhizin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by reducing TLR4 recruitment into lipid rafts in RAW264.7 cells [J]. *BBA-Gen Subjects*, 2014, 1840(6): 1755-1764.
- [45] Lorent J H, Quetin-Leclercq J, Mingeot-Leclercq M P. The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells [J]. *Org Biomol Chem*, 2014, 12(44): 8803-8822.
- [46] 杜洪亮. 基于甘草次酸修饰自组装胶束递药系统的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [47] 医疗器械生物学评价第 1 部分: 风险管理过程中的评价与试验 [S]. 2011.
- [48] Negishi M, Irie A, Nagata N, *et al.* Specific binding of glycyrrhetic acid to the rat liver membrane [J]. *BBA-Biomembranes*, 1991, 1066(1): 77-82.
- [49] O'brian C A, Ward N E, Vogel V G. Inhibition of protein kinase C by the 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate antagonist glycyrrhetic acid [J]. *Cancer Lett*, 1990, 49(1): 9-12.
- [50] Ying T H, Tsai J H, Wu T T, *et al.* Immunochemical localization of protein kinase Calpha in the biopsies of human hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Physiol*, 2008, 51(5): 269-274.

- [51] Ishida S, Sakiya Y, Taira Z. Disposition of glycyrrhizin in the perfused liver of rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 1994, 17(7): 960-969.
- [52] Salvi M, Fiore C, Armanini D, *et al.* Glycyrrhetic acid-induced permeability transition in rat liver mitochondria [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(12): 2375-2379.
- [53] Singh H, Kim S J, Kang D H, *et al.* Glycyrrhetic acid as a hepatocyte targeting unit for an anticancer drug delivery system with enhanced cell type selectivity [J]. *Chem Commun*, 2018, 54(87): 12353-12356.
- [54] Wu F, Li X, Jiang B, *et al.* Glycyrrhetic acid functionalized nanoparticles for drug delivery to liver cancer [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2018, 14(11): 1837-1852.
- [55] Su X, Wu L, Hu M, *et al.* Glycyrrhizic acid: A promising carrier material for anticancer therapy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 670-678.
- [56] Libutti S K, Tamarkin L, Nilubol N. Targeting the invincible barrier for drug delivery in solid cancers: Interstitial fluid pressure [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(87): 35723-35725.
- [57] Jain R K, Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(11): 653-664.
- [58] Mezghrani O, Tang Y, Ke X, *et al.* Hepatocellular carcinoma dually-targeted nanoparticles for reduction triggered intracellular delivery of doxorubicin [J]. *Int J Pharm*, 2015, 478(2): 553-568.
- [59] Cheng M, Gao X, Wang Y, *et al.* Synthesis of glycyrrhetic acid-modified chitosan 5-fluorouracil nanoparticles and its inhibition of liver cancer characteristics *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(9): 3517-3536.
- [60] Tian Q, Zhang C N, Wang X H, *et al.* Glycyrrhetic acid-modified chitosan/poly(ethylene glycol) nanoparticles for liver-targeted delivery [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(17): 4748-4756.
- [61] Zu Y, Meng L, Zhao X, *et al.* Preparation of 10-hydroxycamptothecin-loaded glycyrrhizic acid-conjugated bovine serum albumin nanoparticles for hepatocellular carcinoma-targeted drug delivery [J]. *Int J Nanomed*, 2013, 8: 1207-1222.
- [62] Shi L L, Tang C, Yin C H. Glycyrrhizin-modified O-carboxymethyl chitosan nanoparticles as drug vehicles targeting hepatocellular carcinoma [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(30): 7594-7604.
- [63] Yang F H, Zhang Q, Liang Q Y, *et al.* Bioavailability enhancement of paclitaxel via a novel oral drug delivery system: Paclitaxel-loaded glycyrrhizic acid micelles [J]. *Molecules*, 2015, 20(3): 4337-4356.
- [64] Yan T, Li D, Li J, *et al.* Effective co-delivery of doxorubicin and curcumin using a glycyrrhetic acid-modified chitosan-cystamine-poly (epsilon-caprolactone) copolymer micelle for combination cancer chemotherapy [J]. *Coll Surface B*, 2016, 145: 526-538.
- [65] Zhang J, Zhang M, Ji J, *et al.* Glycyrrhetic acid-mediated polymeric drug delivery targeting the acidic microenvironment of hepatocellular carcinoma [J]. *Pharm Res*, 2015, 32(10): 3376-3390.
- [66] Wu F, Xu T, Liu C, *et al.* Glycyrrhetic acid-poly (ethylene glycol)-glycyrrhetic acid tri-block conjugates based self-assembled micelles for hepatic targeted delivery of poorly water soluble drug [J]. *Sci World J*, 2013, doi: 10.1155/2013/913654.
- [67] Wu J L, Tian G X, Yu W J, *et al.* pH-responsive hyaluronic acid-based mixed micelles for the hepatoma-targeting delivery of doxorubicin [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 364.
- [68] Lin J H, Wang X L, Wu Q, *et al.* Development of salvianolic acid B-tanshinone II_A-glycyrrhetic acid compound liposomes: Formulation optimization and its effects on proliferation of hepatic stellate cells [J]. *Int J Pharm*, 2014, 462(1/2): 11-18.
- [69] Li J, Xu H, Ke X, *et al.* The anti-tumor performance of docetaxel liposomes surface-modified with glycyrrhetic acid [J]. *J Drug Target*, 2012, 20(5): 467-473.
- [70] Chang M, Wu M, Li H. Antitumor activities of novel glycyrrhetic acid-modified curcumin-loaded cationic liposomes *in vitro* and in H22 tumor-bearing mice [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1984-1995.
- [71] Mao S J, Bi Y Q, Jin H, *et al.* Preparation, characterization and uptake by primary cultured rat hepatocytes of liposomes surface-modified with glycyrrhetic acid [J]. *Die Pharmazie*, 2007, 62(8): 614-619.
- [72] Tian J, Wang L, Wang L, *et al.* A wogonin-loaded glycyrrhetic acid-modified liposome for hepatic targeting with anti-tumor effects [J]. *Drug Deliv*, 2014, 21(7): 553-559.
- [73] Majeti N V. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2000, 3(2): 234-258.
- [74] Mao S J, Hou S X, He R, *et al.* Uptake of albumin nanoparticle surface modified with glycyrrhizin by primary cultured rat hepatocytes [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(20): 3075-3079.
- [75] He S S, Lin Q, Qu M K, *et al.* Liver-targeted co-delivery of entecavir and glycyrrhetic acid based on albumin nanoparticle to enhance the accumulation of entecavir [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(9): 3953-3961.
- [76] Chen M J, Yao J R, Shao Z Z, *et al.* Biomacromolecule-based nanoparticle drug carriers [J]. *Prog Chem*, 2011, 23(1): 202-212.

- [77] Lin A, Liu Y, Huang Y, *et al.* Glycyrrhizin surface-modified chitosan nanoparticles for hepatocyte-targeted delivery [J]. *Int J Pharm*, 2008, 359(1/2): 247-253.
- [78] Tian Q, Wang X H, Wang W, *et al.* Self-assembly and liver targeting of sulfated chitosan nanoparticles functionalized with glycyrrhetic acid [J]. *Nanomedicine*, 2012, 8(6): 870-879.
- [79] Chen Q, Sun Y, Wang J, *et al.* Preparation and characterization of glycyrrhetic acid-modified stearic acid-grafted chitosan micelles [J]. *Artif Cell Nanomed B*, 2015, 43(4): 217-223.
- [80] Han X F, Wang Z, Wang M, *et al.* Liver-targeting self-assembled hyaluronic acid-glycyrrhetic acid micelles enhance hepato-protective effect of silybin after oral administration [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(5): 1818-1829.
- [81] Wang X, Gu X, Wang H, *et al.* Enhanced delivery of doxorubicin to the liver through self-assembled nanoparticles formed via conjugation of glycyrrhetic acid to the hydroxyl group of hyaluronic acid [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 195: 170-179.
- [82] Ma Y, Hao J, Zhao K, *et al.* Biobased polymeric surfactant: Natural glycyrrhizic acid-appended homopolymer with multiple pH-responsiveness [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2019, 541: 93-100.
- [83] Yang T, Lan Y, Cao M, *et al.* Glycyrrhetic acid-conjugated polymeric prodrug micelles co-delivered with doxorubicin as combination therapy treatment for liver cancer [J]. *Colloid Surface B*, 2018, 175: 106-115.
- [84] Huang W, Wang W, Wang P, *et al.* Glycyrrhetic acid-modified poly (ethylene glycol)-b-poly (gamma-benzyl L-glutamate) micelles for liver targeting therapy [J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(10): 3927-3935.
- [85] Chen F, Zhang J, He Y, *et al.* Glycyrrhetic acid-decorated and reduction-sensitive micelles to enhance the bioavailability and anti-hepatocellular carcinoma efficacy of tanshinone II_A [J]. *Biomater Sci*, 2016, 4(1): 167-182.
- [86] Chen F, Zhang J, Wang Y, *et al.* Glycyrrhetic acid-decorated and reduction-sensitive micelles for targeted cancer therapy [J]. *J Control Release*, 2015, 213: e75.
- [87] Zhu X M, Tseng A A, Yuan Z Y, *et al.* Glycyrrhetic acid-modified TPGS polymeric micelles for hepatocellular carcinoma-targeted therapy [J]. *Int J Pharm*, 2017, 529(1/2): 451-464.
- [88] Zhang J M, Zheng Y F, Xie X, *et al.* Cleavable multifunctional targeting mixed micelles with sequential pH-triggered TAT peptide activation for improved antihepatocellular carcinoma efficacy [J]. *Mol Pharm*, 2017, 14(11): 3644-3659.
- [89] Liu F Y, Yang D, Liu Y W, *et al.* Improving dispersive property, biocompatibility and targeting gene transfection of graphene oxide by covalent attachment of polyamidoamine dendrimer and glycyrrhetic acid [J]. *Colloid Surface B*, 2018, 171: 622-628.
- [90] Kornievskaya V S, Kruppa A I, Polyakov N E, *et al.* Effect of glycyrrhizic acid on lappaconitine phototransformation [J]. *J Phys Chem B*, 2007, 111(39): 11447-11452.
- [91] Rani R, Dilbaghi N, Dhingra D, *et al.* Optimization and evaluation of bioactive drug-loaded polymeric nanoparticles for drug delivery [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 78: 173-179.
- [92] Chen Y C, Liu Y, Xu J N, *et al.* A natural triterpenoid saponin as multifunctional stabilizer for drug nanosuspension powder [J]. *Aaps Pharmscitechnol*, 2017, 18(7): 2744-2753.
- [93] Qiu C, Wang J, Qin Y, *et al.* Characterization and mechanisms of novel emulsions and nano-emulsion gels stabilized by edible cyclodextrin-based metal-organic frameworks and glycyrrhizic acid [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(1): 391-398.
- [94] Puglia C, Rizza L, Drechsler M, *et al.* Nanoemulsions as vehicles for topical administration of glycyrrhetic acid: Characterization and *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Drug Deliv*, 2010, 17(3): 123-129.
- [95] Polyakov N E, Khan V K, Taraban M B, *et al.* Complex of calcium receptor blocker nifedipine with glycyrrhizic acid [J]. *J Phys Chem B*, 2008, 112(14): 4435-4440.
- [96] Tong X F, Zhao F Q, Ren Y Z, *et al.* Injectable hydrogels based on glycyrrhizin, alginate, and calcium for three-dimensional cell culture in liver tissue engineering [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2018, 106(12): 3292-3302.
- [97] Liang S, Li M, Yu X, *et al.* Synthesis and structure-activity relationship studies of water-soluble beta-cyclodextrin-glycyrrhetic acid conjugates as potential anti-influenza virus agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 166: 328-338.
- [98] Singh H, Lim J Y, Sharma A, *et al.* A pH-responsive glycyrrhetic acid-modified small-molecule conjugate for NIR imaging of hepatocellular carcinoma (HCC) [J]. *Chembiochem*, 2019, 20(4): 614-620.