

青藤碱 PLGA-TPGS 纳米粒对 HCa-F 细胞在小鼠淋巴管内增殖及异位移植瘤的抑制作用研究

王洪刚^{1*}, 高萌², 张成鸿³, 徐静³, 孙艺平³, 徐红^{3#}(1.大连医科大学附属第一医院药剂科, 辽宁大连 116011; 2.大连医科大学药学院, 辽宁大连 116044; 3.大连医科大学基础医学院, 辽宁大连 116044)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)16-2229-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.16.20

摘要 目的:研究青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E(PLGA-TPGS)纳米粒(SPTN)对小鼠腹水型肝癌高淋巴管转移细胞HCa-F在小鼠淋巴管内增殖及异位移植瘤的抑制作用。方法:将HCa-F细胞悬液分别加入生理盐水、5-氟尿嘧啶溶液(FS)、青藤碱溶液(SS)、青藤碱PLGA纳米粒(SPN)和SPTN,使终质量浓度均为80 μg/ml,采用羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)标记;经小鼠一侧足垫注射各细胞悬液50 μl,每组15只,分别于3、6、9、12、24 h用荧光倒置显微镜观察上述悬液对HCa-F细胞在小鼠体内淋巴管内增殖的抑制作用。取小鼠分为正常对照组、空白PLGA-TPGS纳米粒(EPTN)组、生理盐水组、SPTN组、SPN组、SS组和FS组,每组10只,后6组小鼠建立荷HCa-F细胞的肝癌异位移植瘤模型,尾iv相应药物15 mg/kg,每日1次,连续给药10 d;检测血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天门冬氨酸转氨酶(AST)、γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)、白蛋白(ALB)和总胆红素(TBIL)的含量;取出实体瘤,称量瘤质量和瘤体积,计算抑瘤率。结果:对HCa-F细胞增殖的抑制作用强弱依次为SPTN>SPN>FS>SS>生理盐水。与生理盐水组比较,SPTN组、SPN组、SS组和FS组小鼠血清中ALT、AST、γ-GT、TBIL水平降低,ALB水平升高($P<0.05$);SPTN组、SPN组和FS组小鼠的瘤体积增长量和瘤质量明显降低($P<0.05$),抑瘤率依次为49.62%、40.53%、33.90%。结论:SPTN可抑制HCa-F细胞在小鼠淋巴管内的增殖,能改善荷HCa-F细胞小鼠肝癌异位移植瘤,且效果优于SPN和FS。

关键词 青藤碱;乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E;纳米粒;HCa-F细胞;淋巴管;异位移植瘤

Study on Inhibitory Effects of Sinomenine-loaded PLGA-TPGS Nanoparticles on the Proliferation of HCa-F Cells in Lymph Tubes and Ectopic Transplantation Tumors in Mice

WANG Honggang¹, GAO Meng², ZHANG Chenghong³, XU Jing³, SUN Yiping³, XU Hong³(1.Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116011, China; 2.College of Pharmacy, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 3.College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effects of sinomenine (SIN)-loaded poly(lactic-co-glycolic acid)-*D*- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (PLGA-TPGS) nanoparticles (SPTN) on the proliferation of HCa-F cells in lymph tubes and ectopic transplantation tumors in mice. METHODS: HCa-F cell suspension were incubated with normal saline, 5-fluorouracil (FS), sinomenine solutions (SS), sinomenine PLGA nanoparticles (SPN) and SPTN, with concentration of 80 μg/ml. The cells were marked with CFSE, and then were injected with suspension 50 μl via one footpad of mice. Inhibitory effect of above suspensions on the proliferation of HCa-F in lymph tubes of mice was observed by fluorescence inverted microscope at 3, 6, 9, 12, 24 h ($n=15$). Mice were divided into normal control group, blank PLGA-TPGS nanoparticles (EPTN) group, normal saline group, SPTN group, SPN group, SS group and FS group with 10 mice in each group. The latter 5 groups were injected with relevant medicine 15 mg/kg, once a day, via tail vein for consecutive 10 days after the model of HCa-F cells-bearing ectopic transplantation tumor mice was established. The serum content of ALT, AST, γ -glutamyltransferase (γ -GT), ALB and T-BIL were determined; solid tumors were taken, measured and weighed, and the inhibitory rate of tumor was also calculated. RESULTS: The inhibitory effect of above solution on the proliferation of HCa-F cells in descending order was as follows: SPTN>SPN>FS>SS>normal saline. Compared with normal saline group, the serum levels of ALT, AST, γ -GT and TBIL of SPTN group, SPN group, SS group and FS group decreased, while ALB level increased ($P<0.05$); the amount of tumor volume increase and tumor weight in SPTN group, SPN group and FS group decreased significantly ($P<0.05$). The inhibitory rate of tumor in 3 groups were 49.62%, 40.53% and 33.90%. CONCLUSIONS: SPTN can inhibit the proliferation of HCa-F cells in lymph tubes of mice, and can improve HCa-F cells-bearing ectopic transplantation tumor in mice. It is better than SPN and FS.

KEYWORDS Sinomenine; Poly(lactic-co-glycolic acid) tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate; Nanoparticles; HCa-F cells; Lymph tubes; Ectopic transplantation tumor

* 主管药师, 硕士。研究方向: 药物制剂。电话: 0411-83635963-7079。E-mail: 13840805901@139.com

通信作者: 实验师。研究方向: 药物新制剂、新技术。电话: 0411-86110323。E-mail: 859133790@qq.com

青藤碱(Sinomenine, SIN)是从中药青风藤中提取的生物碱单体化合物, 分子式为 $C_{15}H_{23}NO_4$, 具有抗炎、抗免疫、镇痛等药理作用, 国内已有其盐酸盐片剂、注射液等用于临床^[1]。现代药理学研究发现, SIN对肿瘤细胞增殖也有较强的抑制作

用^[2-3],但由于其对光、热均不稳定,且体内生物半衰期较短,临床治疗一般需长期用药;此外给药剂量较大也易引起皮疹、胃肠道等不良反应,限制了其使用。

笔者前期根据SIN的结构和性质,用乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E(Poly(lactic-co-glycolic acid)-*D*- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate, PLGA-TPGS)为载体,将其制成SIN-PLGA-TPGS纳米粒(SPTN)^[4-5],既增加了SIN的体外稳定性,又可将SIN靶向于肝脏^[6],还能延长药物在靶部位的作用时间^[7-9],更好地发挥SIN对肝癌的治疗作用。

本研究在此基础上,以5-氟尿嘧啶作为阳性药物,并用SIN-PLGA纳米粒(SPN)^[4-5]进行对比,考察SPTN对被羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(Carboxyfluorescein succinimidyl ester, CFSE)标记的小鼠腹水型肝癌高淋巴管转移细胞HCa-F在小鼠淋巴管内增殖及异位移植瘤的作用,以期制备SIN新制剂提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

NanoZS90型激光粒度仪(英国Marlvern公司);SCPTOH型离心机(离心半径:13.5 cm)、7060型自动临床生化分析仪(日本Hitachi公司);IX81型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 药品与试剂

SIN原料药(陕西森弗生物技术有限公司,批号:20130120,纯度:98%);SPN(批号:20150308,规格:65 mg/g)、SPTN(批号:20150308,规格:98 mg/g)、空白PLGA-TPGS纳米粒(EPTN,批号:20150308)均由大连医科大学基础医学院自制;5-氟尿嘧啶注射液(FS,深圳三顺制药有限公司,批号:20141030,规格:25 mg/ml);CFSE(美国Dojindo试剂公司,批号:DV730);胶原酶II(北京Solarbio试剂公司,批号:808A137);RPMI 1640培养粉(美国Gibco BRL公司);丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20150908、20150908、20150911、20150827、20150911);水为三蒸水,其余辅料均为药用规格,所用试剂均为分析纯。

1.3 动物与细胞株

清洁级健康成熟8周龄昆明种小鼠,♀♂兼用,体质量20~22 g,由大连医科大学实验动物中心提供,实验动物使用合格证号:SCXK(辽)2008-0002。小鼠腹水型肝癌高淋巴管转移细胞HCa-F由大连医科大学形态学实验室提供,在pH 7.2的RPMI 1640培养液中,于37℃、5%CO₂培养箱中培养。

2 方法与结果

2.1 对HCa-F细胞在小鼠淋巴管内增殖的影响

2.1.1 HCa-F细胞的孵育 复苏冻存的HCa-F细胞,用台盼蓝染色法计算活细胞数并稀释至细胞密度为 3.2×10^7 个/ml。取0.2 ml的细胞悬液接种在小鼠腹腔,7 d后观察小鼠腹部微微隆起,在无菌条件下抽取其腹水2 ml,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,1 000 r/min离心(离心半径:13.5 cm)至无血水,制成 1×10^7 个/ml的细胞悬液^[10-12]。为了区别小鼠淋巴结细胞和HCa-F细胞的外观形态,给药前分别取空白小鼠腋下、腹股沟、腭窝处淋巴结细胞,并将其体外与CFSE标记的HCa-F细胞混合,荧光显微镜下观察。小鼠3处淋巴结实体图见图1,淋巴结细胞与CFSE标记的HCa-F细胞混合的显微镜图见图2。

由图1可知,小鼠腋下、腹股沟、腭窝3处淋巴结所在的位

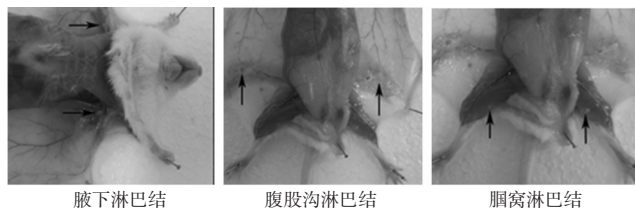


图1 小鼠3处淋巴结实体图

Fig 1 Images of 3 lymph nodes in mice

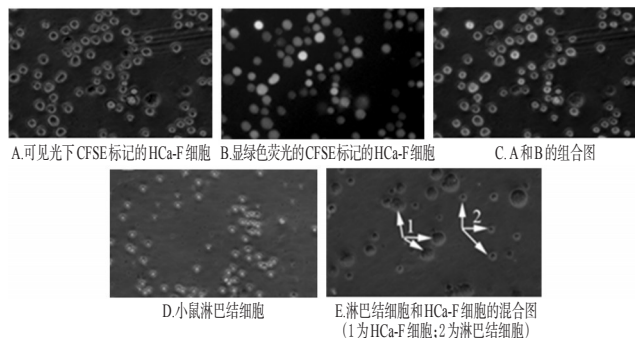


图2 淋巴结细胞与CFSE标记的HCa-F细胞混合的显微镜图($\times 200$)

Fig 2 Microgram of lymph nodular cells mixed with HCa-F cells marked by CFSE($\times 200$)

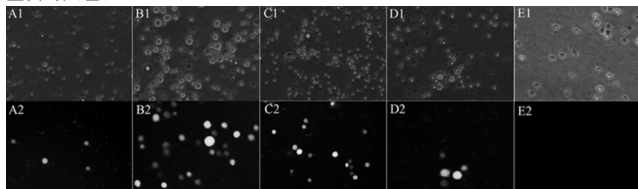
置。由图2C可见,CFSE与HCa-F细胞结合后HCa-F细胞显较强的绿色荧光,细胞较大、圆整,可见细胞核结构,此时因尚未注射入小鼠体内,故图中没有淋巴结细胞。由图2E可见,淋巴结细胞与CFSE标记的HCa-F细胞在大小、形态上有明显的区别,提示在体内较易将2种细胞分辨出来。

2.1.2 分组与给药 取HCa-F细胞悬液5份各1 000 μ l,分别精密加入以下5组药物溶液或混悬液各190 μ l共同孵育,使各组含药终质量浓度均为80 μ g/ml:①空白对照组:生理盐水;②FS组:用生理盐水稀释的500 μ g/ml的FS;③SIN溶液(SS)组:用生理盐水制备的质量浓度为500 μ g/ml的SIN原料药溶液;④SPN组:精密称取SPN 38.5 g,加生理盐水5 ml,100 W功率下超声30 s,分散均匀,制得的500 μ g/ml的SPN混悬液;⑤SPTN组:精密称取SPTN 25.5 g,同④法制得的500 μ g/ml的SPTN混悬液。

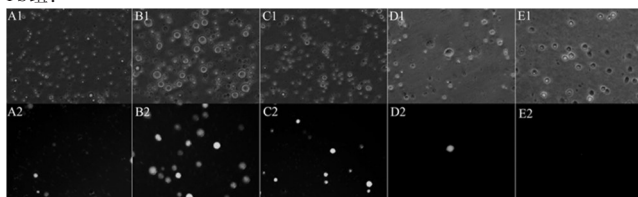
2.1.3 指标检测 将“2.1.2”项下各组悬液置于37℃、5%CO₂细胞培养箱中温育10 min,再分别加入CFSE(CFSE终浓度为5 μ mol/L),再置于37℃、5%CO₂细胞培养箱中温育20 min。取小鼠,♀♂兼用,随机分为5组,每组15只,分别进行一侧足垫注射经以上药物处理的细胞悬液50 μ l(相当于 0.5×10^6 个细胞)。给药3、6、9、12、24 h后每组各时间点分别颈椎脱位法处死3只小鼠(实验期间小鼠禁食,正常饮水),取与注射足垫同侧的腭窝、腹股沟、腋下淋巴结于0.5 ml生理盐水中,剪碎,避光保存;加入0.1%胶原酶II 50 μ l孵育降解30 min,过滤,压片,在倒置荧光显微镜下观察荧光情况,结果见图3(图中A1~E1是3、6、9、12、24 h时在可见光通道下淋巴结中的HCa-F细胞和淋巴结细胞,A2~E2是在荧光通道下CFSE标记的HCa-F细胞和淋巴结细胞)。

由图3可知,空白对照组在3、6、9、12 h时观察到的CFSE标记的HCa-F细胞相对于相同时间点其他各组更多,表明生理盐水不能抑制HCa-F细胞的增殖。FS组在相同时间点观察到的CFSE标记的HCa-F细胞比SS组少,说明FS对HCa-F细

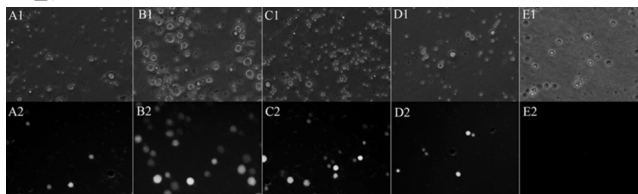
空白对照组:



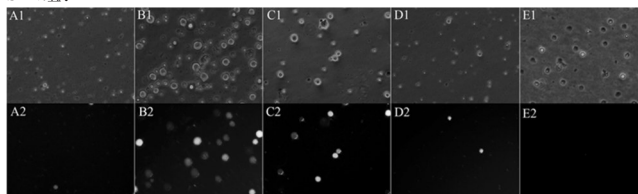
FS组:



SS组:



SPN组:



SPTN组:

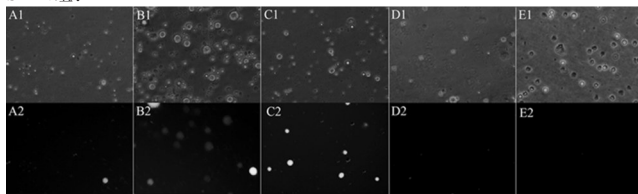


图3 各组小鼠淋巴结细胞和HCa-F细胞的混合图(×200)

Fig 3 Images of lymph nodular cells mixed with HCa-F cells of mice in each group(×200)

胞增殖的抑制作用比SS强。但SPTN组在相同时间点观察到CFSE标记的HCa-F细胞比SPN组和FS组均少,说明对HCa-F细胞增殖的抑制作用强弱依次为SPTN>SPN>FS>SS>生理盐水。而比较不同时间点观察到的HCa-F细胞,6 h时相对是最多的,其他时间点时逐渐减少,24 h时几乎没有。

2.2 对荷HCa-F细胞小鼠异位移植瘤的影响^[10-12]

2.2.1 荷HCa-F细胞小鼠异位移植瘤模型建立 抽取“2.1.1”项下体内孵育约7 d的小鼠腹水,用生理盐水将HCa-F细胞稀释为 2.5×10^6 个/ml,按0.01 ml/g注射在小鼠的腋下,10 d后腋下可见形成明显的实体瘤。

2.2.2 分组与给药 随机将肿瘤长径在14~16 mm范围内的小鼠分为6组,分别为生理盐水组、EPTN组、SPTN组、SPN组、SS组和FS组,每组10只。尾iv相应药物15 mg/kg,每日1次,连续给药10 d。另取10只健康小鼠作为正常对照组,腋下不注射HCa-F细胞,在其他组小鼠造模和给药期间不注射任何药物,仅正常进食和饮水。

2.2.3 肝功能指标检测 给药10 d后,将各组小鼠麻醉、固定,心尖取血。血样置于2 ml离心管中,于4 °C静置保存30 min,3 000 r/min(离心半径:13.5 cm)离心5 min,取上层血清用

7060型自动临床生化分析仪测定其 γ -GT、ALT、AST、ALB和TBIL的含量及活性。用SPSS 13.0软件进行统计分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。各组小鼠血清中肝功能指标的检测结果见表1。

表1 各组小鼠血清中肝功能指标的检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Results of liver function indexes in serum of mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	γ -GT,U/L	ALT,U/L	AST,U/L	ALB,g/L	TBIL, μ mol/L
正常对照组	3.1±0.5	23.9±1.6	17.3±1.4	30.6±2.5	1.9±1.2
生理盐水组	6.4±1.3	38.5±2.1	34.8±2.3	23.7±1.8	4.7±0.9
EPTN组	6.1±1.9	36.1±2.2	35.4±2.4	24.8±1.5	4.5±0.8
FS组	4.3±1.2*	32.4±2.7*	27.6±1.9*	25.9±2.2*	3.7±1.4*
SS组	5.8±1.4*	34.5±2.0*	30.7±1.5*	25.1±2.8*	3.9±1.1*
SPN组	4.4±1.1*	30.2±2.3*	25.9±1.8*	26.3±2.6*	3.1±1.3*
SPTN组	4.2±0.9*	27.6±1.5*	21.2±1.7*	28.6±2.0*	2.5±0.8*

注:与生理盐水组比较,* $P < 0.05$

Note:vs. normal saline group,* $P < 0.05$

由表1可知,与正常对照组比较,生理盐水组小鼠血清中5个指标差异无统计学意义($P > 0.05$),这是因为本模型属于异位移植瘤,对小鼠肝脏影响较小,故代表肝脏是否受到损伤的ALT、AST、ALB指标并没有较明显的改变,代表肝癌前病变的特征性指标 γ -GT也没有明显的改变。与生理盐水组比较,EPTN组小鼠血清中5个指标差异均无统计学意义($P > 0.05$),这说明EPTN对模型小鼠血清中上述指标无明显影响;但FS组、SS组、SPN组、SPTN组小鼠血清中 γ -GT、ALT、AST和TBIL水平均降低,ALB水平升高($P < 0.05$),表明各药物对受损肝脏均有一定的改善作用。其中SPTN组各指标改变更明显,表明SPTN对在HCa-F细胞影响下有一定损伤的肝脏有相对较好的修复作用;但各组测定结果之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2.4 瘤体积增长量和抑瘤率检测^[13-15] 在小鼠给药前后,用游标卡尺测量小鼠肿瘤的长径及短径,并计算瘤体积(瘤体积=长径×短径²/2)和瘤体积增长量(瘤体积增长量=给药后瘤体积-给药前瘤体积)。在停药次日,将小鼠断颈处死,将小鼠固定后,小心剥离瘤体,称质量,计算抑瘤率[抑瘤率(%)=(生理盐水组平均瘤质量-给药组平均瘤质量)/生理盐水组平均瘤质量×100%]。各组小鼠瘤体体积增长量、瘤质量、抑瘤率的检测结果见表2。

表2 各组小鼠瘤体体积增长量、瘤质量、抑瘤率的检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Increment volume, weight and inhibitory rate of tumor of mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	瘤体体积增长量, cm^3	瘤质量,g	抑瘤率,%
生理盐水组	5.95±1.34	5.25±1.06	
EPTN组	5.84±1.26	5.13±0.89	2.84
FS组	3.31±0.85*	3.49±0.70*	33.90
SS组	3.42±0.78*	4.25±0.72	19.51
SPN组	2.93±0.52*	3.14±0.67* [△]	40.53
SPTN组	2.68±0.33** ^{△△}	2.66±0.51** ^{△△}	49.62

注:与生理盐水组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与FS组比较,[△] $P < 0.05$;与SS组比较,^{△△} $P < 0.05$

Note:vs. normal saline group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;vs. FS group,[△] $P < 0.05$;vs. SS group,^{△△} $P < 0.05$

由表2可知,与生理盐水组比较,FS组、SS组、SPN组、SPTN组小鼠的瘤体体积增长量减小($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明这4组药物能抑制肿瘤的生长,而EPTN无此效果;SPN组、

SPTN组、FS组小鼠的瘤质量均减轻($P<0.05$ 或 $P<0.01$),说明其具有较好的抑瘤作用,且抑瘤率均可达到30%以上,其中SPTN组的抑瘤率最高。

2.2.5 细胞生长及凋亡情况观察 取实体瘤用甲醛溶液固定,常规石蜡包埋切片,HE染色。镜检,挑选3~5个视野观察6组实体瘤切片中肿瘤细胞的生长及凋亡情况。各组小鼠肿瘤组织的显微镜图见图4。

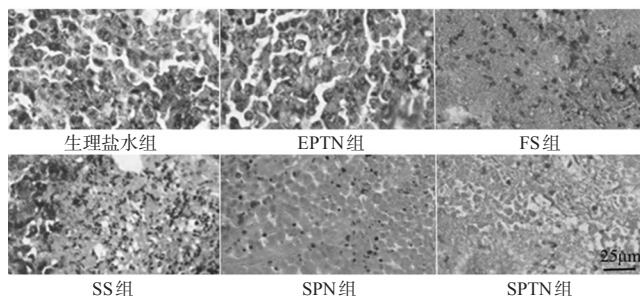


图4 各组小鼠肿瘤组织的显微镜图(HE,×400)

Fig 4 Microgram of tumor tissue of mice in each group (HE,×400)

由图4显示,生理盐水组肿瘤细胞生长旺盛,细胞较密集或呈大片状,细胞结构清晰,细胞核完整居中,部分为双核结构,坏死范围较小。EPTN组肿瘤细胞数目减少,但细胞结构完整,胞核染色较深,活细胞较多,与生理盐水组比较无明显差异。FS组肿瘤细胞结构异形,部分破碎成片,边缘形态模糊,细胞核颜色变浅,部分细胞核丢失,肿瘤细胞明显减少。SS组肿瘤细胞较生理盐水组大大减少,坏死面积增加,但仍可见部分肿瘤细胞结构清晰,细胞核完整,说明SS组肿瘤细胞增长程度较生理盐水组缓慢,受到一定抑制,但改善程度不显著。SPN组大多数肿瘤细胞状态与FS组相似,但组织的坏死及细胞数的减少更明显。SPTN组中几乎所有的肿瘤细胞都出现了细胞核的丢失、破碎,细胞边缘模糊,表明SPTN对肿瘤生长有良好的抑制作用,与FS组相比效果更好。

3 讨论

SPTN属于被动靶向制剂,可通过控制粒径大小和表面电荷来实现SIN对肝脏的靶向性,增加药物在靶部位的浓度,延长作用时间,还可以减少达到相同药效时的给药次数、给药剂量,降低对非靶部位的副作用,使SIN能更好地发挥抗肝癌作用。

实验中笔者发现,相同时间点在小鼠膈窝、腹股沟、腋下淋巴结3处HCa-F细胞数没有明显区别,表明HCa-F细胞在体内循环无明显差异。随着时间的延长,HCa-F细胞从小鼠足垫顺着小鼠的淋巴循环通道,逐渐向主要淋巴器官膈窝、腹股沟、腋下转移,并且滞留在体内其他部位,导致在9、12、24h时观察到的HCa-F细胞逐渐减少。12h和24h时观察到有HCa-F细胞,但在对应位置处未显出绿色荧光,说明随着时间的延长,HCa-F细胞在小鼠体内由于分裂增殖,母细胞中的CFSE以1:1的比例分配到2个子细胞中,随着细胞的增多荧光逐渐减弱最后消失,故在12h和24h时能观察到HCa-F细胞形态但观察不到绿色荧光。由图3显示,SPN和SPTN对HCa-F细胞的抑制作用分别比SS明显,这是因为纳米粒具有缓释性和靶向性,与HCa-F细胞的结合更强,对细胞抑制作用比SS明显;SPTN对HCa-F细胞的抑制作用最强,进一步表明SPTN可更好地抑制HCa-F细胞在小鼠淋巴管内的增殖。

荷瘤小鼠实验中,SPTN组的抑瘤作用最显著,该组血清

中 γ -GT、ALT、AST、ALB和TBIL水平改变最明显,瘤体积增长量、平均瘤质量最小,抑瘤率可达49.62%;HE染色后镜下观察的结果也显示,SPTN的抑瘤效果最佳,表明SPTN对肝癌有较好的抑制作用。同时以纳米粒形式给药的SPN组、SPTN组较SS组有更好的抑瘤效果,这是因为纳米粒对肝细胞有一定的靶向作用,细胞摄取率更高,可增加药物在靶部位的浓集;同时纳米粒有较好的缓释作用,可延长药物在靶部位的滞留时间;另外纳米粒还可以通过内吞药物、减少药物从细胞中泄露,从而降低肿瘤细胞的耐药性等。

参考文献

- [1] 朱士龙,陈迪钊,李勇,等.青藤碱最新研究进展[J].吉首大学学报:自然科学版,2011,32(5):95.
- [2] 陈伟毅,秦春宏,银晓刚.青藤碱抗肿瘤作用研究进展[J].中国药师,2013,16(12):1902.
- [3] 史海龙,崔亚亚.青藤碱对人肝癌细胞HepG2增殖的抑制作用[J].中医临床研究,2012,4(19):18.
- [4] 徐红,高萌,张成鸿,等.青藤碱聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E纳米粒的制备及处方工艺优化[J].中国药房,2015,26(4):525.
- [5] 徐红,高萌,张成鸿,等.青藤碱聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E纳米粒的质量评价[J].中国药房,2015,26(7):982.
- [6] 方晓玲.药理学[M].北京:人民卫生出版社,2007:370-371.
- [7] 顾晓华,王轩,安磊,等.齐墩果酸/PLGA-TPGS纳米粒的制备及其体外释放行为研究[J].中国药房,2012,23(29):2726.
- [8] Bao X, Gao M, Xu H, *et al.* A novel oleanolic acid-loaded PLGA-TPGS nanoparticle for liver cancer treatment [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2015,41(7):1193.
- [9] 孙辉,高萌,蒋妮,等.姜黄素PLGA-TPGS纳米粒的制备和质量评价[J].大连医科大学学报,2013,35(5):438.
- [10] 陈华,徐红,安磊,等.3种齐墩果酸纳米粒对小鼠HCa-F细胞体外抑制作用比较[J].中国药房,2012,23(37):3477.
- [11] 高萌,张成鸿,徐红,等.注射用姜黄素温敏凝胶在实体瘤内滞留时间的研究[J].中国药房,2012,23(3):206.
- [12] 高萌,蒋妮,徐红,等.注射用姜黄素温敏凝胶体内外抗肿瘤实验研究[J].中国药房,2014,25(7):605.
- [13] Gao M, Xu H, Zhang CH, *et al.* Preparation and characterization of curcumin thermosensitive hydrogels for intratumoral injection treatment[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2014,40(11):1557.
- [14] Liu HY, Gao M, Xu H, *et al.* A promising emodin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) - α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate nanoparticles for liver cancer therapy[J]. *Pharm Res*, 2016,33(1):217.
- [15] Xiong S, Yu B, Wu J, *et al.* Preparation therapeutic efficacy and intratumoral localization of targeted daunorubicin liposomes conjugating folate-PEG-CHEMS[J]. *Biom-ed Pharmacother*, 2011,65(1):2.

(收稿日期:2015-11-30 修回日期:2016-01-25)

(编辑:邹丽娟)