

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.006

透明质酸修饰的绿原酸脂质体对 U14 宫颈癌荷瘤小鼠的抑制作用 *

赵玉玺 魏 莹 陈 珍 张世鹏 张 帆[△]

(川北医学院药学院 药物研究所 四川 南充 637000)

摘要 目的:对透明质酸(HA)靶向绿原酸(CA)脂质体(HA-CA 脂质体)进行处方筛选,以及对 U14 宫颈癌小鼠的抑制作用实验。**方法:**筛选制备 HA-CA 脂质体的方法,并以磷脂比、药脂比、PBS 的 pH 为单因素考察指标通过正交实验筛选最优处方;采用透析袋法考察 HA-CA 的体外释放;Bal b/c 小鼠右腋下接种 U14 宫颈癌瘤株,连续尾静脉注射给药 14 d 后,摘取瘤体称重,并计算肿瘤生长抑制。**结果:**采用薄膜分散法制备脂质体,最优处方为磷脂比为 4:1,药脂比为 1:30,PBS 的 pH 为 7.4。HA-CA 脂质体与 CA 脂质体释放曲线基本一致,都具有一定的缓释效果。48 h 时,HA-CA 脂质体和 CA 脂质体的累计释放度分别为 78.39%、83.01%。HA-CA 脂质体对 U14 宫颈癌小鼠的抑瘤率为 60.39%,与阳性对照组环磷酰胺相当,高于 CA 和 CA 脂质体。**结论:**HA-CA 脂质体由于其具有主动靶向配体 HA 的修饰,使其抑制 U14 宫颈癌裸鼠的效果明显高于 CA 和 CA 脂质体。

关键词:透明质酸;绿原酸;靶向;脂质体;肿瘤

中图分类号:R-33; R737.33; R94 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)26-5029-05

The Anti Tumor Effect of Hyaluronic Acid Decorated Chlorogenic Acid Liposomes on Mice Bearing Uterine Cervical Carcinoma (U14)*

ZHAO Yu-xi, WEI Ying, CHEN Zhen, ZHANG Shi-peng, ZHANG Fan[△]

(School of Pharmacy, Institute of medicine, North Sichuan Medical University, Nanchong, Sichuan, 637000, China)

ABSTRACT Objective: To optimize the formulation of HA-CA liposomes and to study the anti-tumor effect of HA-CA liposomes on uterine cervical carcinoma mice. **Methods:** The methods of preparing HA-CA liposomes were screened, and the optimal fomulation was selected by the orthogonal design experiment with the the phospholipids/cholesterol ratio, the drug/lipids ratio and the pH value of PBS buffer was 7.4 as entrapment efficiency was the index. The release of HA-CA liposomes was studied by dialysis bag method. Uterine cervical carcinoma cells were inoculated subcutaneously into right axillary of Bal b/c mice, after continuous treatment of 14 d, we weighed the tumor and calculated the rate of tumor growth inhibition. **Results:** HA-CA liposomes were prepared by thin film hydration methods. The optimal parameters were as follows: the phospholipids/cholesterol ratio was 4:1, the drug/lipids ratio was 1: 30, the pH value of PBS buffer was 7.4. The release curve of HA-CA liposome and CA liposome was basically the same, both of which a sustained-release efficacy. The cumulative release of HA-CA liposomes and CA liposomes were 78.39% and 83.01% at 48h. The inhibition rate of HA-CA liposomes on U14 cervical cancer mice was 60.39% and significantly higher than that of positive control group, which was higher than that of CA and CA liposomes. **Conclusions:** HA-CA liposomes can significantly inhibit the effect of U14 cervical cancer nude mice higher than that of CA and CA liposomes owe to the modification of the active target ligand HA.

Key words: Hyaluronic acid; Chlorogenic acid; Target; Liposomes; Tumor

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.33; R94 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)26-5029-05

前言

绿原酸(chlorogenic acids, CA)在杜仲、金银花、咖啡豆、苹果^[1]含量非常高,是由肉桂酸和奎宁酸缩合而成的一个酚酸化合物家族。绿原酸具有广泛的药理作用,如抗氧化^[2]、抗菌^[3]、抗病毒^[4]等。同时,研究表明,绿原酸具有较好的抗肿瘤作用,对肺癌^[5]、乳腺癌^[6]、结肠癌^[7]等均有明显的抑制作用。但是由于绿原酸属于酯类化合物,在水中溶解度差,在体内吸收性低,仅 33% 的绿原酸被小肠吸收,导致绿原酸的生物利用度不高,从而影

响疗效^[8]。

脂质体(liposomes)作为药物载体,可包封脂溶性和水溶性药物,增加药物在水相中的溶解度,并且能提高生物利用度和治疗指数,减轻不良反应^[9]。透明质酸(hyaluronic acid, HA)是细胞外基质与胞间质的重要构成部分。研究表明,CD44 是透明质酸特定受体,其过量表达在肿瘤细胞表面,可增强透明质酸与肿瘤结合和内化的能力^[10]。使透明质酸修饰的载体可以主动靶向至 CD44 受体高表达的组织或细胞,比如肿瘤组织^[11],以促进药物在肿瘤部位的摄取和滞留,成为近年来靶向性功能载体

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81460637)

作者简介:赵玉玺,药剂学硕士,研究方向:靶向药物制剂, E-mail: 329034330@qq.com

[△] 通讯作者:张帆,教授,药物化学博士,研究方向:药物代谢组学, E-mail: summer1898@126.com

(收稿日期:2017-03-08 接受日期:2017-03-31)

的研究热点。

为提高绿原酸在抗肿瘤领域的应用价值,本研究采用透明质酸作为主动靶向配体修饰载绿原酸的脂质体(HA-CA 脂质体),筛选了制备工艺和最优处方,并对 HA-CA 脂质体在荷瘤小鼠体内的抑制作用进行了验证。

1 材料与方法

1.1 仪器

Sartorius BP211D 电子天平(德国 Sartorius 公司);ALPHA 2-4 LSC 冻干机(德国 Christ 公司);S25-2 转速加热数显磁力搅拌(上海司乐仪器有限公司);RE-52AA 旋转蒸发仪(上海青浦沪西仪器厂);SHB-D 台式循环水真空泵(巩义予华仪器有限公司)。CJ-2S 超净台(江苏天润仪器有限公司);DM-IL 倒置显微镜(德国徕卡公司);TGL-16G-A 离心机(上海安亭科学仪器厂);恒温摇床(北京同正生物技术发展有限公司);100、1000 μ L 移液枪(美国 Thermo Scientific 公司)。

1.2 药品与试剂

绿原酸、DOPE、大豆磷脂、胆固醇、环磷酸胺(美国 Sigma 公司);透明质酸钠($M_w=8000$ Da)(山东福瑞达生物化工有限公司);其余试剂为分析纯。

1.3 实验动物

雄性 Bal b/c 小鼠,体重 18 ± 2 g(四川大学华西动物试验中心);SPF 级雄性 Bal b/c 小鼠,雄性,5 周龄,体重 20 ± 2 g(购自北京维通利华生物科技股份有限公司);U14 细胞株(川北医学院)。

1.4 方法

1.4.1 筛选制备方法^[12] (1)逆向蒸发法:分别精密称取卵磷脂 90 mg、胆固醇 30 mg、绿原酸 4 mg 于茄型瓶中。加入氯仿丙酮混合溶剂 10 mL,超声溶解后 35 $^{\circ}$ C 旋转蒸发除去溶剂,形成均匀薄膜,再加入 9 mL 氯仿和 3 mL PBS(pH 6.6),大力震荡混匀后,超声 5 min 形成稳定的 W/O 相,35 $^{\circ}$ C 旋转蒸发至凝胶状,再加入 3 mL PBS(pH 6.6)和 2 mL HA-DOPE 的 PBS 溶液(HA-DOPE 含量为 1 g/L),水化 1 h(35 $^{\circ}$ C),即得,编号为 $\textcircled{0}$ 。

(2)乙醇注入法:精密称取卵磷脂 90 mg、胆固醇 30 mg、绿原酸 4 mg 于茄型瓶中。加入 10 mL 无水乙醇超声溶解,缓慢均匀注入 65 $^{\circ}$ C 3 mL PBS(pH 6.6)溶液(含 2 d 吐温 80)和 2 mL HA-DOPE 的 PBS 溶液(HA-DOPE 含量为 1 g/L),保温搅拌 1 h,超声 5 min,即得,编号为 $\textcircled{0}$ 。

(3)薄膜分散法:精密称取卵磷脂 90 mg、胆固醇 30 mg、绿原酸 4 mg 于茄型瓶中,加入氯仿丙酮混合溶剂 10 mL,超声溶解后,超声溶解后 35 $^{\circ}$ C 旋转蒸发除去溶剂,形成均匀薄膜。加入 3 mL PBS (pH 6.6) 溶液和 2 mL HA-DOPE 的 PBS 溶液(HA-DOPE 含量为 1 g/L)后,水化 1 h(35 $^{\circ}$ C),即得,编号为 $\textcircled{0}$ 。

1.4.2 正交实验筛选处方 在单因素实验的基础上采用正交实验筛选制备 HA-CA 脂质体的最佳处方。本实验采用四因素三水平 $L_9(3^3)$ 的正交表设计实验。三因素分别是:磷脂比(A)、药脂比(B)、PBS 的 pH(C)。每个因素三个水平,设计正交实验表,如表 2 所示。以包封率为考察指标,筛选最优处方。包封率采用离心法,以 HPLC 外标一点法测定药物包封率。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and level table

Level\Factors	phospholipids/cholesterol ratio (A)	drug/lipids ratio (B)	pH value of PBS buffer (C)
1	3:1	1:10	6.6
2	4:1	1:20	7.4
3	5:1	1:30	7.8

1.4.3 体外释放实验 分别取 5 mL HA-CA 脂质体、5 mL CA 脂质体,CA 溶液(含 CA 5 mg)置入透析袋中,加入释放介质(PBS,pH 7.4)50 mL,于 37 $^{\circ}$ C、100 r/min 恒温振荡。分别于 0.5、1、2、4、8、12、24、36 和 48 h 取样 1 mL(同时补充等温等量释放介质),用 HPLC 法测定 CA 浓度,计算三组样品各时间点累计释药分数并作图。

1.4.4 HA-CA 脂质体对 U14 宫颈癌小鼠的抑制作用 从液氮中取出冻存的 U14 宫颈癌细胞复苏转移至含 10%FBS 的 DMEM 培养基中,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养。细胞单层贴壁生长至 90%,传代,置培养箱中继续培养,在倒置显微镜下观察细胞生长状况和细胞形态。取对数期细胞用生理压水配制成活细胞计数为 2×10^6 个/mL 单细胞悬液,0.5%台盼蓝拒染实验显示活细胞比例大于 90%,按 0.2 mL/只的接种量接种于小鼠右腋窝皮下。接种次日,将 50 只造模小鼠随机分为肿瘤模型组、阳性对照组、CA 组、CA 脂质体组、HA-CA 脂质体组,每组 10 只。5 组均从接种后次日开始,尾静脉注射给药 1 d/次,

一共 14 d。肿瘤模型组、阳性对照组、CA 组、CA 脂质体组、HA-CA 脂质体组分别给药为生理盐水、环磷酸胺溶液(10 mg/kg)、CA 溶液(10 mg/kg)、CA 脂质体(其中 CA 含量为 10 mg/kg)、HA-CA 脂质体(其中 CA 含量为 10 mg/kg),容积为 0.2 mL/只。采用 SPSS17.0 统计软件进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选制备方法结果

将三种方法制备得到的 HA-CA 脂质体用超纯水稀释后用动态光散射粒径分析仪测定粒径,得到平均粒径和 PDI(多分散系数)值,如下表 2 所示。从表 2 可以看出,以平均粒径和 PDI 为评价指标,采用薄膜分散法制备的 CA 脂质体较好,因此本文采用薄膜分散法。

2.2 正交实验结果

以包封率为考察指标,根据正交实验表筛选最优处方。包

表 2 平均粒径及 PDI 值

Table 2 Average particle size and PDI

Number	Average particle size	PDI
0	298.4	0.27
0	315.0	0.31
0	219.2	0.16

封率采用离心法,以 HPLC 外标一点法测定药物包封率。结果如表 3 所示。分析实验结果,三因素对包封率的影响程度为 $A>B>C$,最优处方为 A2B3C2,即磷脂比为 4:1,药脂比为 1:30,PBS 的 pH 为 7.4。分六批按正交设计实验筛选出制备 CA 脂质体最佳工艺处方制备 HA-CA 脂质体,测定其包封率,在最佳处方工艺下,HA-CA 脂质体的包封率为 $85.36\pm 1.01\%$ 。

2.3 体外释放实验结果

结果如图 1 所示,CA 在最初 0.5 h 释放已达到 68.56%,

曲线在 8 h 后趋于平衡;而 HA-CA 脂质体和 CA 脂质体无明显突释现象,在 0.5 h 的累计释放分别为 14.65%和 12.89%,8 h 累计释放分别为 43.33%和 40.96%。48 h 时,HA-CA 脂质体和 CA 脂质体的累计释放度分别为 78.39%、83.01%。综上所述,HA-CA 脂质体和 CA 脂质体与游离药物相比,具有一定的缓释作用,且二者的释放曲线相似,说明 HA 的修饰对药物释放无明显影响。

2.4 对 U14 宫颈癌小鼠的抑瘤率

第 15 天处死小鼠,称取其瘤重,计算抑瘤率。抑制率 $= (1 - \text{治疗组平均瘤重} / \text{模型组平均瘤重}) \times 100\%$ 。采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。如表 4 所示,CA 脂质体和 HA-CA 脂质体对 U14 宫颈癌小鼠均有抑制作用,HA-CA 脂质体的抑瘤率为 60.39%,与阳性对照环磷酸胺效果相当,明显高于 CA 脂质体和 CA 组。这一结果表明,经过 HA 修饰的 CA 脂质体对 U14 宫颈癌小鼠的抑制作用效果明显。

表 3 正交实验结果

Table 3 Orthogonal experiment results

Number	A	B	C	Encapsulation efficiency (%)
0	1	1	1	67.66
0	1	2	2	64.78
0	1	3	3	72.91
0	2	1	3	69.92
0	2	2	1	72.45
0	2	3	2	85.27
0	3	1	2	82.11
0	3	3	2	82.48
0	3	3	1	77.14
k1	68.45	73.23	72.42	
k2	75.88	73.27	77.39	
k3	80.58	78.44	75.10	
R	12.12	5.27	4.97	

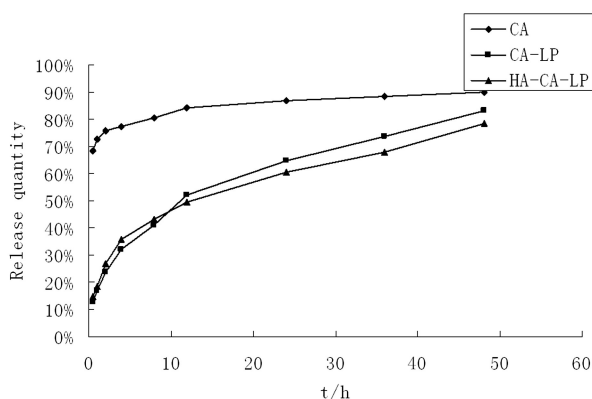


图 1 HA-CA 脂质体的体外释放曲线

Fig.1 In vitro release curve of HA-CA liposomes

3 讨论

透明质酸(HA)是由 D-葡萄糖醛酸及 N-乙酰葡萄糖胺组成的双糖单位的高分子化合物,是细胞外基质的主要成分^[13],在人体中具有多种生物学作用,包括组织支持、细胞迁移、分化等。由于其具有良好的生物相容性,生物可降解性和无毒性,透明质酸目前已经被广泛应用于药物递送和组织工程^[14]。透明质酸可以通过识别细胞的 CD44 受体而被细胞选择性地摄取^[15],CD44 是一种细胞表面糖蛋白,目前报道高表达于多种肿瘤,如卵巢癌^[16]、肺腺癌、宫颈癌等,可以通过胞外结构域与透明质酸结合而成为其识别肿瘤的关键细胞表面受体。利用透明质酸的这一特点,利用透明质酸的配体-受体识别肿瘤机制用于肿瘤成像及治疗已经成为研究热点^[17]。目前透明质酸一般有三种常用的方式进行抗肿瘤治疗,第一种是由于透明质酸的结构中

表 4 HA-CA 脂质体对 U14 宫颈癌小鼠的抑制作用

Table 4 Inhibitory effect of HA-FA liposomes on U14 tumor bearing mice

Teams	Dose/g·kg ⁻¹	n	Tumor weight/g	Tumor inhibitory rate
Tumor model	--	9	3.56± 0.43	--
Positive control#	10	10	1.32± 0.69	62.92
CA#	10	10	2.29± 0.31	35.67
CA-LP#*	10	10	1.95± 0.49	45.22
HA-CA-LP#*	10	10	1.41± 0.55	60.39

Compared with the tumor model group #<0.05.

Compared with the positive control group *<0.01.

氨基和羧基常作为修饰位点,结合抗肿瘤药物,形成 HA- 药物偶联物,可以增强药物溶解性,增强其蓄积性,提高药效。例如 HA-PTX 前药^[8],与常规药物相比,HA-PTX 极大地增加了 PTX 的水溶性,抑制肿瘤生长,增强了抗肿瘤活性。第二种常用方式是先将透明质酸与其他生物材料键合,形成纳米载体材料,再包载抗肿瘤药物。如 Hyung 等^[9] 共价交联透明质酸和 PLGA,形成 HA-PLGA 两亲性材料,再将其制备成纳米粒,然后包载阿霉素,结果表明治疗效果显著提高。第三种常用方式是透明质酸的表面修饰,用透明质酸修饰的纳米给药系统优势明显,如透明质酸修饰的姜黄素脂质体,对 A549 细胞的毒性作用强于未经修饰的姜黄素脂质体,增强了其抑制肿瘤的能力^[20]。所以本文选用透明质酸作为主动靶向配体进行表面修饰,以达到主动靶向治疗宫颈癌的目的。

脂质体目前已被广泛用作抗肿瘤药物的载体来使用,脂质体具有较好的生物相容性和细胞亲和力,既可以将亲水性药物包载在内水相中,又可以和疏水性药物以镶嵌的形式包载于磷脂膜中以提高难溶性药物的溶解度^[21]。由于脂质体是由磷脂胆固醇形成的囊泡,与细胞生物膜相似,所以具有良好的生物相容性;药物包载于脂质体后,能够从脂质体中缓慢释放,从而减慢药物的代谢与排泄,显著延长药物在体内的作用时长;另外脂质体双层膜对不稳定药物具有较好的保护作用,从而能够使包封药物更加稳定。鉴于脂质体以上的特点,使其在诸多疾病尤其是恶性肿瘤的治疗中显示出明显的优越性。绿原酸作为酚酸类药物的代表,近年来被发现对多种抗肿瘤有作用,与其他酚酸类药物一样,绿原酸能降低体内过氧化状态,维持体内环境的稳定性,从而促进正常细胞的代谢,保护正常细胞,从而发挥抗肿瘤的治疗作用。本文选择绿原酸作为抗肿瘤药物,制备绿原酸脂质体以改善其溶解度、增加其稳定性和抗肿瘤效果,同时表面用透明质酸修饰提供其主动靶向性,并探索其制备方法、体外释放行为及在 U14 荷瘤小鼠体内的抑瘤率等。

本文以平均粒径和 PDI 为指标,筛选了制备方法,确定采用薄膜分散法制备 HA-CA 脂质体。包封率是评价脂质体制剂质量的重要指标,也是脂质体能否发挥高效低毒优势的关键^[22]。脂质体包封率测定的常用的分离方法有凝胶柱层析法、离心法、微柱离心法、透析法、超滤离心法等,本文以离心法测定包封率,并以脂质体的包封率为指标,通过正交实验确定最优处方。通过体外释放研究证明了 HA-CA 脂质体具有一定的缓释作用。对 U14 宫颈癌小鼠的抑瘤率实验结果显示,HA-CA 脂

质体的抑瘤率,与阳性对照环磷酰胺效果相当,明显高于 CA 脂质体和 CA 组。证实了 HA-CA 脂质体由于其 HA 配体可以介导药物主动靶向到 HA 受体高表达的肿瘤组织,且可缓释药物,从而克服了绿原酸水溶性差等自身局限,提高了药物的生物利用度,增强了绿原酸的抗肿瘤效果,为酚酸类抗肿瘤药物的使用提供了一定的实验基础和治疗思路。

参考文献(References)

- [1] Olthof M R, P C Hollman, M B Katan. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans[J]. J Nutr, 2001, 131(1): 66
- [2] 刘英,王之盛,周安国,等. 橙皮苷和绿原酸的体内抗氧化效应研究[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 196-199
Liu Ying, Wang Zhi-sheng, Zhou An-guo, et al. In vivo and in vitro antioxidant effects of hesperidin and chlorogenic acid [J]. Food Science, 2009, 30(23): 196-199
- [3] 沈奇,沈小青,吴国荣. 蒲公英绿原酸白芨多糖包合物的抗氧化作用[J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2010, 33(3): 81-84
Shen Qi, Shen Xiao-qing, Wu Guo-rong. Study on the anti-lipid peroxidation of em bedded chlorogenic acid in dandelion [J]. J Nanjing Normal University (Natural Science Edition), 2010, 33(3): 81-84
- [4] 李丽静,王继彦,王本祥,等. 返魂草提取物及其有效成分抗病毒机制的研究[J]. 陕西中医学院学报, 2004, 27(6): 65-66
Li Li-jing, Wang Ji-yan, Wang Ben-xiang, et al. Antivirus Mechanism of the Extract and Effective Components of Senecio cannabifolius Less (SCL)[J]. J Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, 2004, 27(6): 65-66
- [5] 孙秋艳,刘艳,汪茜,等. 绿原酸对 Lewis 肺癌小鼠及人 A549 肺癌的实验研究[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(5): 536-538
Sun Qiu-yan, Liu Yan, Wang Qian, et al. Study on antitumor effects of chlorogenic acid on Lewis and A549 lung carcinoma [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 25(5): 536-538
- [6] 叶晓林,刘艳,邱果,等. 绿原酸对小鼠 EMT-6 乳腺癌抑制作用研究[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 51-52
Ye Xiao-lin, Liu Yan, Qiu Guo, et al. Inhibitory effect of chlorogenic acid on EMT-6 breast cancer in mice[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2012, 28(1): 51-52
- [7] 萧海容,刘艳,孙秋艳,等. 绿原酸抗小鼠 CT26 结肠癌作用的研究[J]. 华西药学杂志, 2012, 27(3): 269-271
Xiao Hai-rong, Liu Yan, Sun Qiu-yan, et al. Study on the inhibitory effects of chlorogenic acid on CT26 colon cancer [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2012, 27(3): 269-271

- [8] 王丽萍, 郭栋, 王果, 等. 中药绿原酸的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2001, 22(4): 961-963
Wang Li-ping, Guo Dong, Wang Guo, et al. Advancement of chlorogenic acid in traditional chinese medicine [J]. Li Shi Zhen Medicine and Meteria Medica Research, 2001, 22(4): 961-963
- [9] 赖滢滢, 王岩, 张英丰. 星点设计-效应面法进行蛇床子素脂质体处方优化的研究[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(6): 708-712
Lai Ying-ying, Wang Yan, Zhang Ying-feng. A central composite design-response surface method for optimizing osthole liposome prescription[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2015, 24(6): 708-712
- [10] 邱立朋, 龙苗苗, 田晨敏, 等. 载多柔比星透明质酸聚合物胶束的制备及抗肿瘤活性[J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(3): 294-298
Qiu Li-peng, Long Miao-miao, Tian Chen-min, et al. Preparation and antitumor activity of hyaluronic acid polymeric micelles loaded with doxorubicin [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2016, 47(3): 294-298
- [11] Platt VM, Szoka FCJ. Anticancer therapeutic: targeting macromolecules and nanocarriers to hyaluronan or CD44, a hyaluronan receptor[J]. Mol Pharm, 2008, 5(4): 474-486
- [12] 盛竹君, 徐维平, 徐婷娟, 等. 脂质体药物传输系统的研究新进展 [J]. 中国药业, 2015, 24(23): 6-8
Sheng Zhu-jun, Xu Wei-ping, Xu Ting-juan, et al. New Developments in Liposomal Drug Delivery Systems [J]. China Pharmaceuticals, 2015, 24(23): 6-8
- [13] Kim H, Kim Y, Kim IH, et al. ROS-responsive activatable photosensitizing agent for imaging and photodynamic therapy of activated macrophages. Theranostics, 2013, 4: 1-11
- [14] Ganesh S, Iyer AK, Weiler J, et al. Combination of siRNA-directed gene silencing with cisplatin reverses drug resistance in human non-small cell lung cancer[J]. Mol Ther Nucleic acids, 2013, 2: e110
- [15] Cohen K, Emmanuel R, Kisin-Finfer E, et al. Modulation of drug resistance in ovarian adenocarcinoma using chemotherapy entrapped in hyaluronan-grafted nanoparticle clusters[J]. ACS Nano, 2014, 8(3): 2183-95
- [16] Shah V, Taratula O, Garbuzenko OB, et al. Targeted nanomedicine for suppression of CD44 and simultaneous cell death induction in ovarian cancer: an optimal delivery of siRNA and anticancer drug[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(22): 6193-204
- [17] Kamat M, El-Bouabbou K, Zhu DC, et al. Hyaluronic acid immobilized magnetic nanoparticles for active targeting and imaging of macrophages[J]. Bioconjug Chem. 2010, 21: 2128-2135
- [18] Luo Y, Ziebell M, Prestwich G A. Hyaluronic Acid-Taxol Antitumor Bioconjugate Targeted to Cancer Cells[J]. Biomacromolecules, 2000, 1(1): 208-218
- [19] Hyung W, Ko H, Park J, et al. Novel hyaluronic acid (HA) coated drug carriers (HCDCs) for human breast cancer treatment [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2008, 99(2): 442-454
- [20] 李建林, 孟路华, 赵玉玺, 等. 透明质酸磷脂酰衍生物修饰姜黄素脂质体的制备及细胞毒性 [J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(5): 471-474
Li Jian-lin, Meng Lu-hua, Zhao Yu-xi, et al. Preparation and cytotoxicity of hyaluronic acid phosphatidyl derivative modified curcumin liposomes[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2013, 44(5): 471-474
- [21] Huang JQ, Kong LW. Preparation and determination of the content and entrapment efficiency of gemcitabine hydrochloride liposome[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2010, 35(1): 30-32
- [22] 杨硕碑, 王杏林, 杨志强. 洛莫司汀-碘海醇复方脂质体的制备及包封率测定[J]. 中国药房, 2014, 25(37): 48
Yang Shuo-ye, Wang Xing-lin, Yang Zhi-qiang. Preparation of lomustine-iohexol compound liposomes and determination of the entrapment efficiency[J]. China Pharmacy, 2014, 25(37): 48

(上接第 5010 页)

- [17] Xu YQ, Sun ZQ, Wang YT, et al. Function of Nogo-A/Nogo-A receptor in Alzheimer's disease [J]. CNS Neurosci Ther, 2015, 21(6): 479-485
- [18] Sepe M, Lignitto L, Porpora M, et al. Proteolytic control of neurite outgrowth inhibitor Nogo-A by the cAMP/PKA pathway [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(44): 15729-165734
- [19] 孙国岚, 唐咏春, 金丽英, 等. 肌苷对大鼠脑缺血再灌注后神经蛋白基因表达的影响[J]. 齐鲁医学杂志, 2004, 19(1): 9-13
Sun Guo-lan, Tang Yong-chun, Zheng, Jin Li-ying, et al. Effects of inosine on expression of Nogo-A mRNA after cerebral ischemic reperfusion in rats[J]. Med J Qilu, 2004, 19(1): 9-13
- [20] Huo Y, Yin XL, Ji SX, et al. Amino-Nogo inhibits optic nerve regeneration and functional recovery via the integrin α v signaling pathway in rats[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(2): 616-626
- [21] 隋云鹏, 朱莉莉, 隋峰. 神经再生抑制分子 Nogo-A 的病理生理机制研究进展[J]. 医学分子生物学杂志, 2016, 13(2): 115-119
Sui Yun-peng, Zhu Li-li, Sui Feng. Advances in the pathophysiological mechanisms of neuron regeneration inhibitor Nogo-A[J]. J Med Mol Biol, 2016, 13(2): 115-119
- [22] 赵修, 宋锦宁, 郝磊, 等. 大鼠弥漫性轴索损伤后 Nogo-A 在脑组织中表达的分布与动态变化及其意义 [J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2015, 36(1): 80-84
Zhao Xiu, Song Jin-ning, Xi Lei, et al. Expression changes of Nogo-A and its significance in rat brain with diffusive axonal injury [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences), 2015, 36(1): 80-84
- [23] 杨俊锋, 张亚峰, 马勇, 等. Nogo-A 在脊髓损伤大鼠脊髓组织中的动态表达[J]. 中国康复医学杂志, 2015, 30(9): 867-871
Yang Jun-feng, Zhang Ya-feng, Ma Yong, et al. Dynamic expression of Nogo-A in spinal cord of rats with spinal cord injury [J]. Chinese Journal Rehabilitation Medicine, 2015, 30(9): 867-871
- [24] Cui MZ. Potential therapeutics for myocardial ischemia-reperfusion injury. Focus on "Induction of cardioprotection by small netrin-1-derived peptides" [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 309(2): 97-99
- [25] Xu G, Wang R, Wang Z, et al. NGL-2 is a new partner of PAR complex in axon differentiation [J]. J Neurosci, 2015, 35(18): 7153-7164