

# 基于甘草次酸的肝癌靶向纳米递送系统研究进展

闫付晴<sup>1</sup>, 梁菊<sup>1\*</sup>, 林阳<sup>1</sup>, 张云蕴<sup>1</sup>, 吴文澜<sup>2</sup> (1. 河南科技大学化学化工学院, 河南 洛阳 471023; 2. 河南科技大学医学院, 河南 洛阳 471023)

**摘要:** 靶向性纳米药物递送系统(TNDDS)在肝癌药物递送方面具有显著优势,借助配体-受体作用靶向肿瘤部位。TNDDS可以减少达到治疗指数所需的药物量,改善药代动力学和生物分布,并且可以在单次给药后延长药物释放数天。近年来,甘草次酸(GA)作为一种高效的肝癌靶向配体引起了人们的广泛关注。GA的优越性主要体现在其兼具高效肝癌靶向能力、抗肿瘤活性和良好的生物相容性。基于GA的肝癌纳米递送系统具有很高的位点特异性和治疗效率,可以递送化疗药物或基因药物。本文重点介绍GA作为肝癌靶向配体的基础理论及基于GA的纳米递送系统在肝癌治疗方面的研究情况。通过本文的回顾总结,希望相关研究者能对GA基肝癌靶向递送系统的现状有一个系统的认知,为新的递送系统的开发提供参考。

**关键词:** 甘草次酸; 药物递送系统; 纳米载体; 肿瘤靶向; 肝癌

doi:10.11669/cpj.2024.12.001 中图分类号:R944 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)12-1065-09

## Research Progress of Targeted Nano-delivery System for Hepatocellular Carcinoma Based on Glycyrrhetic Acid

YAN Fuqing<sup>1</sup>, LIANG Ju<sup>1\*</sup>, LIN Yang<sup>1</sup>, ZHANG Yunyun<sup>1</sup>, WU Wenlan<sup>2</sup> (1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China; 2. School of Medicine, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China)

**ABSTRACT:** Targeted nano-drug delivery system (TNDDS) offers prominent advantages in drug delivery for treatment of hepatocellular carcinoma, targeting the tumor site via ligand-receptor interaction. TNDDS reduces the dosage of drug to fulfill the therapeutic index requirement, improving pharmacokinetics and biodistribution. Besides, it can sustain drug release for several days after single-dose administration. In recent years, glycyrrhetic acid (GA) attracts much attention as a highly efficient ligand targeting to liver tumor. The superiority of GA is mainly reflected in its combination of efficient liver tumor targeting, superior anti-tumor activity and favorable biocompatibility. GA-based TNDDS to liver tumor possesses high site-specificity and therapeutic efficiency for chemotherapeutic drugs or genetic materials delivering. This paper focuses on the basic theory of GA as a ligand targeting to liver tumor and the researches advances in the development of GA-based nano-delivery systems. Through the review and summary in this paper, it is expected to systematically present current progress of GA-based liver tumor TNDDS for interested researchers, and provide references for the development of new delivery systems.

**KEY WORDS:** glycyrrhetic acid; drug delivery system; nanocarrier; tumor targeting; hepatocellular carcinoma

肝细胞癌(HCC)是肝脏最常见的原发性恶性肿瘤<sup>[1-2]</sup>,发展中国家的发病率较高。早期HCC的治疗方案包括局部消融疗法、切除和肝移植,晚期患者只能依赖全身化疗和经动脉化疗栓塞(TACE)治疗<sup>[3]</sup>。化疗引起的严重副作用导致HCC的治疗效果并不理想。

纳米技术提出了新的解决方案。通过使用肿瘤靶向配体来改善药物的肿瘤积聚<sup>[4]</sup>,这种策略称为靶向性纳米药物递送系统(TNDDS)。TNDDS通常是在纳米载体表面修饰受

体特异性配体,如肽、碳水化合物、蛋白质和抗体<sup>[5]</sup>等,这些配体与肿瘤细胞上过度表达的受体特异性结合,实现药物的靶向递送。研究发现,肝癌细胞表面高表达的膜蛋白和受体有去唾液酸糖蛋白受体(ASGP-R)、甘草次酸受体(GA-R)、转铁蛋白受体(TF-R)、叶酸受体(FA-R)、表皮生长因子受体(EGF-R)等<sup>[6-8]</sup>。它们与肝细胞或HCC细胞上过表达的受体具有高亲和力,修饰过的纳米颗粒可以通过受体介导的内吞作用被恶性细胞内化,导致细胞内药物的释放和更大的细

**基金项目:** 国家自然科学基金项目资助(51403055, U1704150)

**作者简介:** 闫付晴,女,硕士研究生 研究方向: 纳米载体递药 \* **通讯作者:** 梁菊,女,教授,硕士生导师 研究方向: 纳米载体递药  
Tel:13838467989

胞毒性。然而,在肝病的患者中,ASGP-R 的密度和活性较低,因为血清中存在的抑制剂可使原发性肝癌的结合能力降低 95%,所以 ASGP-R 介导的肝脏靶向在病理条件下可能不那么有效<sup>[9-11]</sup>。而 FA 功能化的纳米载体例如脂质体进入血液后和天然免疫球蛋白大量结合,剥夺了 FA 的受体识别,并加速体内补体的激活,导致靶向效率降低<sup>[12]</sup>。HCC 上 TF-R 的过度表达使 TF 成为潜在的靶向分子。但是有研究<sup>[13]</sup>显示使用 TF 偶联的纳米颗粒进行体外实验时,培养基中的蛋白质可以阻止 TF 与靶向受体结合。EGF-R 表达升高在许多癌症中普遍存在,因此该受体已被确定为实体瘤治疗的相关靶点。但是 EGF-R 的表达可能存在低估或高估的情况,在一项人体 I 期试验中<sup>[14]</sup>,EGF 修饰的脂质体并没有显示出预期的疗效<sup>[15]</sup>。

GA 是传统中药甘草的主要活性成分之一<sup>[16]</sup>,其化学结构属五环三萜类化合物<sup>[17]</sup>(图 1)。由于 C-18 位 H 构型不同,GA 有 18 $\alpha$ -GA 和 18 $\beta$ -GA 两种异构体<sup>[18]</sup>。目前的研究中,常用 18 $\beta$ -GA 作为肝癌靶向配体,所以本文的讨论只涉及 18 $\beta$ -GA(以下均称 GA)。GA-R 在肝癌细胞中的表达明显高于正常肝细胞<sup>[19]</sup>,GA 与 GA-R 的结合呈高度特异性和可饱和性,并且 GA 的内化主要是由配体-受体相互作用介导的<sup>[20]</sup>。Tian 等<sup>[21]</sup>的实验中,GA 修饰的汉黄芩素脂质体在 HepG2 细胞中的摄取率是 L-02 细胞的 2.5 倍,说明与 L-02 细胞相比,HepG2 细胞上存在更多的 GA 特异性结合位点。这一结果也说明 GA 修饰可以区分肝癌细胞和正常肝细胞。综合以往研究,GA-R 在实现肝癌高效靶向性方面具有显著优势。大量研究报道显示,GA 修饰的纳米药物递送系统(GA-TNDDS)具有优异肝癌靶向性<sup>[16,22-23]</sup>。

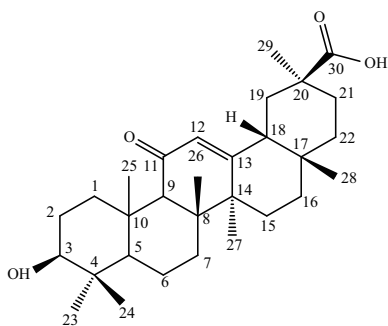


图 1 甘草次酸(GA)的化学结构

## 1 GA 具有肝肿瘤靶向作用的理论基础

研究表明,肝细胞表面存在一种特异性的 GA-R 结合蛋白,GA 与这种蛋白的结合在肝脏中最高,其次是肾脏<sup>[24]</sup>。GA-R 主要在肝脏表达<sup>[25-26]</sup>,肝肿瘤组织的 GA-R 表达量比正常肝组织高 1.5 到 5 倍,GA 已被用于靶向 HCC<sup>[27]</sup>。用 GA 修饰的载体在肝脏中有更高的积累,并且对肝细胞具有更高的靶向效率<sup>[28]</sup>。最早的证据出现在 20 世纪 90 年代初,Negishi 等<sup>[29]</sup>首次发现大鼠肝细胞膜上含有 GA 及 GA 结合位点,GA 与该位点的结合呈可饱和性和

高度特异性。同一时期,O'Brian 等<sup>[30]</sup>发现与邻近的非肿瘤肝细胞相比,作为 GA 结合靶点的蛋白激酶 C(PKC)在 HCC 表面的表达更高,推测 GA 在肝实质细胞膜上的结合位点可能是 PKC,并指出 GA 对小鼠皮肤肿瘤促进的有效拮抗作用可能是其与类固醇受体的结合作用导致的。随后,Wu 等<sup>[31]</sup>研究了 42 例肝癌患者组织标本中 PKC 亚型的 mRNA 表达。结果证实,与相应的非肝癌组织相比,HCC 中的 PKC $\alpha$ 、PKC $\delta$  和 PKC $\zeta$  mRNA 显著增加,表明 GA-R 在肝癌细胞上是过表达的,GA 易于被肝癌细胞识别并与其结合。为了证明肝细胞上存在特异性结合位点,Shi 等<sup>[32]</sup>进行了抑制实验来检测游离 GA 是否会抑制 CMCNP-GA 的摄取。如果细胞表面的特异性结合位点被外源性 GA 饱和,在将游离 GA 添加到培养基中后,CMCNP-GA 的内化将减少,实验结果如设想一般。并且他们也观察到,当添加游离 GA 时,对 CMCNP 的摄取没有影响。基于这些观察结果,他们提出了一个配体受体识别介导 CMCNP-GA 内化的模型。此外,还发现 SMMC-7721 细胞对 CMCNP-GA 的摄取比 L02 细胞表现出显著的优势,并推测 GA 在肝癌细胞上的表达可能更多,并且受体的周期可能比正常肝细胞更快。这个结果在 Tian 等<sup>[21]</sup>的实验中也得到了验证。同样,为了验证 GA-R 存在的真实性,Sun 等<sup>[33]</sup>研究了 GA 与 GA-R 在肝癌细胞中的结合作用。GA 的特异性结合饱和曲线表明,二者的解离常数(Kd)为(7.457  $\pm$  2.122) pmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,最大结合数(Bmax)为(2.385  $\pm$  0.175) pmol/2.5  $\times$  10<sup>6</sup> 个细胞(Kd 和 Bmax 是研究细胞受体和配体结合的最重要参数)。这说明, FITC-GA 与肝细胞膜特异性结合,GA 在 HepG2 细胞中显著竞争结合位点。GA 和 GA-R 之间存在配体受体结合作用得到证实。此外,该课题组利用 GA 修饰的脂质体研究细胞对脂质体纳米颗粒的摄入过程,发现细胞对 GA 作为靶头的 TNDDS 的摄取是通过细胞膜穴样内陷的内吞作用介导的。同样,Singh 等<sup>[34]</sup>报告的近红外成像探针(NIR-GA)也进一步证实 GA 通过受体介导的内吞途径被肝癌细胞有效摄取。

## 2 GA 作为肝癌靶头的纳米递送系统

基于 GA 可识别和结合肝肿瘤细胞表面过表达的 GA-R,目前 GA 已成为肝癌靶向药物递送系统的研究热点。研究者们利用 GA 结构上的可修饰基团设计了多种 GA-TNDDS 用于肝癌的药物递送,主要包括:脂质体、无机纳米粒、金属有机框架类、胶束、聚合物纳米粒、凝胶、GA-药物偶联物等。常见的 GA-TNDDS 类型及载药方式见图 2。

### 2.1 脂质体

脂质体是研究最多的纳米递送系统之一,与生物膜具有相似的脂质双层结构,生物相容性良好<sup>[35]</sup>,可以递送化疗药物。通过将 GA 配体修饰到脂质体表面,形成靶向脂质体。Zhao 等<sup>[36]</sup>合成了 GA 修饰的脂质体(GA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-PTX-LP)(图 3)。实验中,脂质体用 DSPE-PEG<sub>5000</sub>-GA 进行修饰,而 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒和 PTX 被包裹在脂质体中。体内靶向实验表明,GA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-PTX-LP 具有很强的肝癌细胞靶向能力,且

GA/Fe3O4-PTX-LP 可抑制肝癌细胞的增殖,影响其形态、迁移和侵袭,并干扰肝癌细胞的周期。

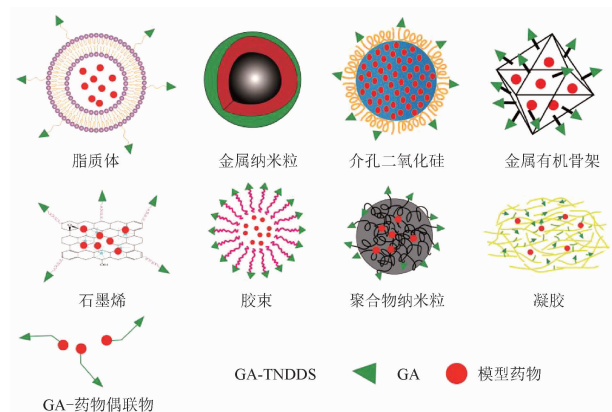


图2 常见的GA修饰的纳米药物递送系统(GA-TNDDS)类型及载药方式

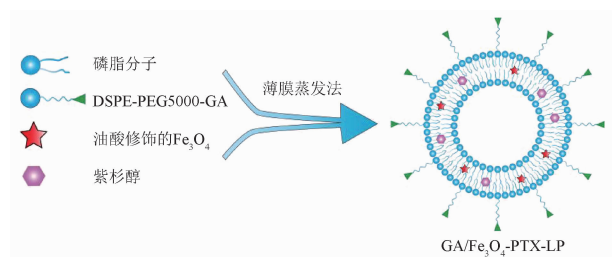


图3 甘草次酸修饰的脂质体(GA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-PTX-LP)示意图

Jiang 等<sup>[37]</sup>制备了GA修饰的脂质体(GA-LPs),用于姜黄素(Cur)和 Combrestatin A4 磷酸盐(CA4P)的肝靶向共递送。体内荧光成像表明,GA靶向脂质体增加了肿瘤区域的积聚。实验显示,与未修饰的LPs相比,Cur-CA4P/GA LPs被人肝癌细胞(BEL-7402)有效吸收,并显示出比游离药物更高的细胞毒性。

GA除了单独修饰脂质体赋予其肝靶向性,还可以与其他靶头联合应用。Li 等<sup>[38]</sup>合成了GA和细胞穿透肽(TAT)同时修饰的平阳霉素脂质体(GA-TAT-PYM-L)。组织分布结果显示,GA-TAT-PYM-L组肝脏中的PYM浓度在5 min后的每个监测周期始终高于其他组织,表明GA-TAT-PYM-L可以实现肝脏靶向性。且与游离PYM相比,脂质体包封的PYM在体内的清除速度减缓,极大地延长了药物作用时间。另有Li 等<sup>[39]</sup>以GA和花生凝集素(PNA)为配体,制备了双配体修饰的多柔比星脂质体(DOX-GA/PNA-Lips)(图4)。结果表明,DOX-GA/PNA-Lips在体内外均显示出有效的抗肿瘤作用,其靶向给药减轻了DOX的毒副作用。

除了将GA修饰到脂质体表面,也可以将GA改造成两亲性分子,插入到脂质体层中获得肝癌靶向性。Zhu 等<sup>[40]</sup>合成了3-琥珀酰-30-硬脂基甘草次酸(18-GA-Suc),将其加入负载斑蝥素(CTD)脂质体中获得一种新的脂质体(18-GA-Suc-CTD-Lip)(图5)。结果表明,经18-GA-Suc修饰后,18-GA-Suc-CTD-Lip的抗肿瘤作用显著。在给药30 min时,18-GA-

Suc-CTD-Lip在肝脏中的最大浓度 $[(1.72 \pm 0.14) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}]$ 是CTD-Lip $[(0.75 \pm 0.08) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}]$ 的2倍多,说明18-GA-Suc-CTD-Lip具有优异的肝脏靶向能力。

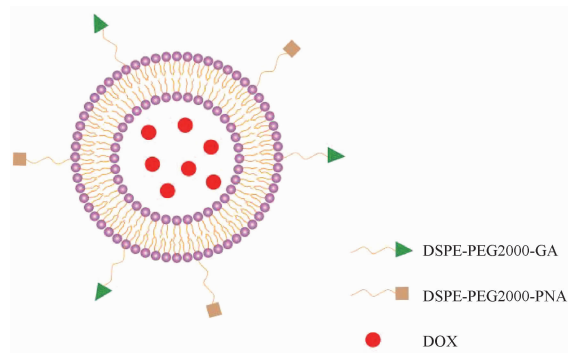


图4 双配体修饰的多柔比星脂质体(DOX-GA/PNA-Lips)示意图

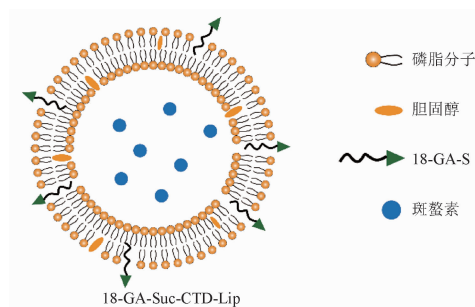


图5 18-GA-Suc-CTD-Lip示意图

## 2.2 胶束

聚合物胶束是在一定条件下两亲性聚合物在溶液中自组装形成的一种具有热力学稳定的有序聚集体<sup>[41]</sup>,已被广泛用作化疗药物靶向递送的药物载体<sup>[42]</sup>。Yan 等<sup>[43]</sup>开发了一种基于壳聚糖(CS)的前药载体,用于DOX和Bel-2 siRNA的共递送。流式细胞术结果表明,GA修饰的载体比无GA修饰的摄取能力几乎翻了一番,体内肿瘤抑制率(88.0%)显著提高。Guan 等<sup>[44]</sup>制备了GA-PEG-SS-GMS(GA-PSG)共聚物(图6)作为递送抗癌药物的平台,模型药物可以被包裹在共聚物形成的胶束中,凭借GA的靶向作用将药物递送到HCC细胞,并在还原环境中释放药物,实现抗肿瘤作用。

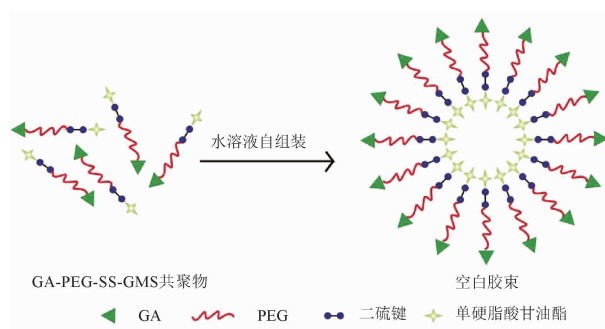


图6 GA-PEG-SS-GMS胶束示意图

基于明胶形成的胶束具有良好生物相容性和可生物降解的优点, Fan 等<sup>[45]</sup> 合成了 GA 修饰明胶 (GA-GEL) 共轭物, 以 DOX 为模型药物。体内成像分析表明, DiR 标记的 GA-GEL 胶束的荧光信号主要分布在肝脏和 H22 原位肿瘤中, 表明 GA-GEL 具有显著的肝靶向活性。并且该胶束具有高载药量, 显示出比 DOX 更高的细胞摄取和肿瘤抑制作用。Song 等<sup>[46]</sup> 制备了 pH 敏感大分子 F68-缩醛-PCL (FAP) 和活性靶向大分子 F68-甘草次酸 (FGA) 的混合胶束, 以有效递送 Cur。结果显示, 在 GA 配体的介导下, 肝癌细胞对 Cur 的内吞率显著提高。体外实验表明, 在肝癌细胞中, 该胶束能诱

导更高的细胞毒性和凋亡。

为了解决抗癌药物存在的药物浓度低、水溶性差、药物分布不专一等问题, Wang 等<sup>[47]</sup> 设计了一种含有 Cur 的纳米棘突还原敏感性聚合物前药 (GA-HA-SS-Cur) (图 7)。纳米棘突是一种类似海胆的胶束, 是基于仿生药物传递系统 (BDDSs) 设计的, 该系统在靶向和对抗 HepG2 人肝癌细胞方面具有协同效应。实验显示 GA-HA-SS-Cur 具有良好的生物安全性, 以时间依赖性的方式进入 HepG2 细胞, 体内抗肿瘤实验显示其能够有效抑制肿瘤生长。

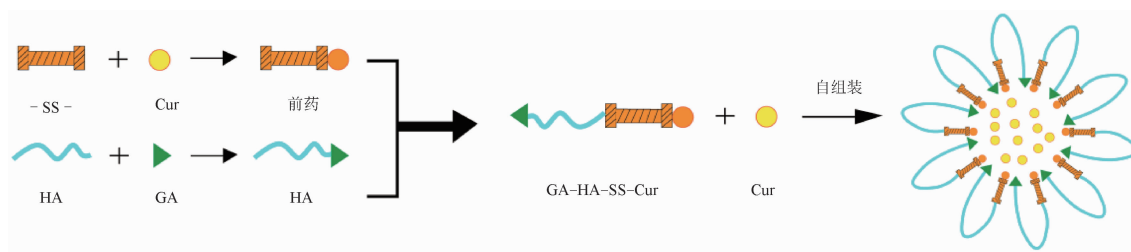


图 7 含有 Cur 的纳米棘突还原敏感性聚合物前药 (GA-HA-SS-Cur) 胶束示意图

### 2.3 金属/无机纳米粒

目前, 越来越多的金属和无机纳米粒已被用于设计药物靶向递送系统, 但相对来说, 二者在 GA-TNDDS 系统中应用较少, 主要报道的有介孔二氧化硅纳米颗粒 (MSN)、金属纳米粒、氧化石墨烯等。

MSN 因其良好的生物相容性<sup>[48]</sup>、易于化学修饰和高封装能力, 已成为制备智能纳米载体的有效平台。Martínez-Edo 等<sup>[49]</sup> 制备了 pH 触发 MSN 纳米载药系统, 用于

DOX/CPT-PEG 的共递送。为了提高靶向性, 作者借助 GA 修饰 MSN。体外实验表明, 该系统进入细胞后, 游离 CPT 与 DOX 结合产生协同效应, 对 HepG2 细胞显示出更强的细胞毒性。Anirudhan 等<sup>[50]</sup> 开发了一种基于胺化介孔二氧化硅纳米颗粒 (AMSN) 和 GA 修饰的玉米醇溶蛋白 (ZEIN) 的药物递送系统 (图 8), 用于 5 氟尿嘧啶 (5-FU) 和 Cur 的联合递送。实验表明该系统具有优良的生物可接受性和较高的细胞毒性, 是具有抗癌活性的高效 DDS。

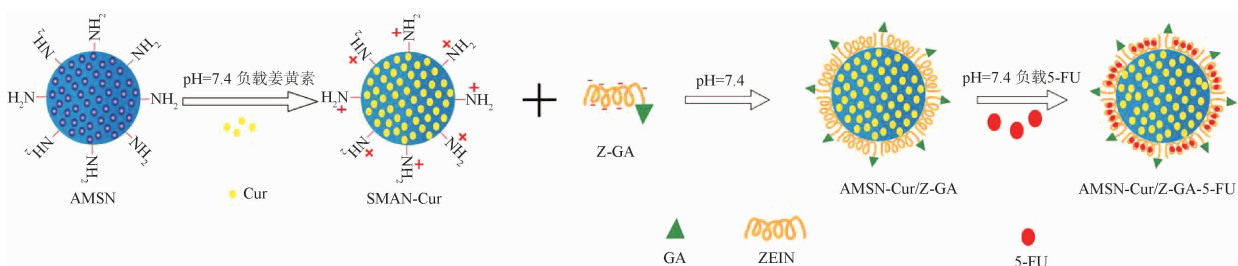


图 8 GA 修饰的介孔二氧化硅纳米颗粒 (MSN) 示意图

磁共振成像 (MRI) 在肝脏肿瘤的早期诊断中显示出巨大的前景。为了提高 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒造影剂材料的生物相容性和靶向性, Li 等<sup>[51]</sup> 在 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒上修饰了 GA, 得到了 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@cGlu-GA 颗粒, 用于肝肿瘤靶向成像 (图 9)。体内外结果均表明, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@cGlu-GA 是一种很有前途的磁共振造影剂, 具有超低的肝毒性, 与现有的基于 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的纳米颗粒相比在生物相容性方面有了很大的提升。

氧化石墨烯 (GO) 基纳米材料可以提高基因装载能力并促进细胞转染效率, 显示出良好的基因递送潜力。在 Liu

等<sup>[52]</sup> 的研究中, GA 和聚酰胺-胺型树枝状高分子 (PAMAM) 通过一步共价交联方法固定在 GO 表面形成了 GO-PAMAM-GA 杂合物。通过 GA 功能化, GO-PAMAM 的基因转染能力提高了约 50%, 并且具有对 SMMC-7721 细胞的靶向基因转染能力。Qu 等<sup>[53]</sup> 将 GA 作为肝靶向配体, 构建由 GA、聚乙二醇 (PEG)、聚酰胺树状大分子和纳米氧化石墨烯 (NGO) 组成的共轭物 (GA-PEG-NGO 树状大分子, GPND) (图 10) 用于 siRNA 的递送。通过 GPND 的递送, siRNA 有效地聚集在肝肿瘤组织中, 靶向性增强, 最终肿瘤组织的生长受到强烈抑制。

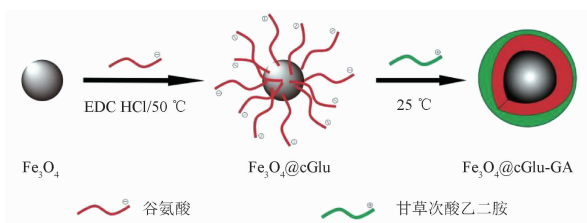


图9  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{cGlu-GA}$  纳米粒示意图

## 2.4 聚合物纳米粒

聚合物纳米粒在 GA-TNDDS 系统中应用较多。Chen 等<sup>[54]</sup>采用一步酯化反应制备了两亲性自组装甘草次酸-生物

素-淀粉纳米粒 (GABS NP) (图 11), 将 DOX 高效递送到 HepG2 细胞中。DOX/GABS NP 表现出迅速的细胞摄取, 明显的靶向能力, 并增强了对 HepG2 细胞的细胞毒性, 有望成为疏水性抗癌药物的潜在载体, 用于未来的体内应用。青蒿琥酯 (ART) 是一种抗疟药物, 从传统草药青蒿中提取, 在治疗肝癌方面也具有显著疗效。Pan 等<sup>[55]</sup>将 GA 的高效肝靶向性与 PLGA (聚乳酸) 的优良生物学特性相结合, 开发了 GA 修饰的新型药物递送系统 (GA-PEG-PLGA-ART), 以提高 ART 对肝癌的治疗效率。结果表明, 与游离 ART 相比, GA 的修饰显著增加了 NPs 在肝癌细胞中的结合亲和力和聚集, 在体外达到显著增强的细胞毒性。

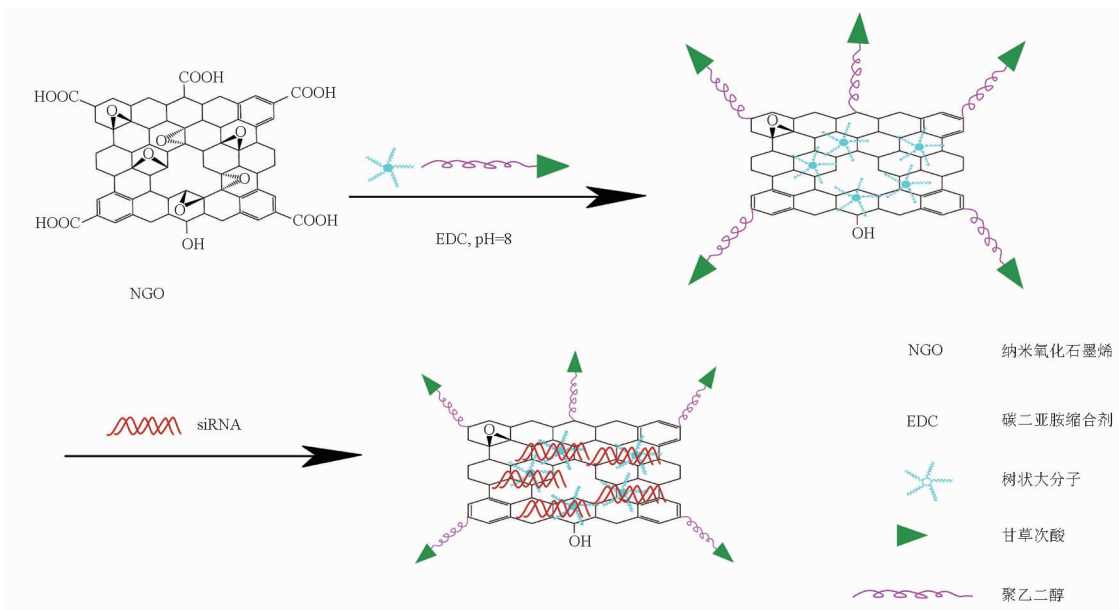


图10 GA-PEG-NGO 树状大分子组装示意图

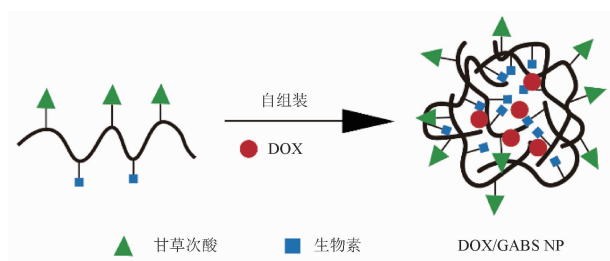


图11 甘草次酸生物素 (GABS) 纳米粒示意图

虽然 GA 修饰的聚合物纳米粒应用较多, 但目前更多的研究致力于 GA 和其他靶头联合应用。Li 等<sup>[56]</sup>设计了 GA 和半乳糖双配体修饰的壳聚糖纳米粒 (图 12), 作为肝癌递送药物平台。后期通过加载 siPAK1, 一种 siRNA, 构建了双配体纳米粒 GCGA-siPAK1<sup>[57]</sup>。结果表明, 该系统在配体-受体介导下表现出显著的抗肿瘤作用。

Tian 等<sup>[58]</sup>利用 GA 和 L-组氨酸 (HIS) 修饰的透明质酸 (HA) 合成了一种新型共聚物 (GHH), 制备了 pH 响应性的多柔比星纳米粒 (DOX/GHH) (图 13) 用于肝靶向给药。

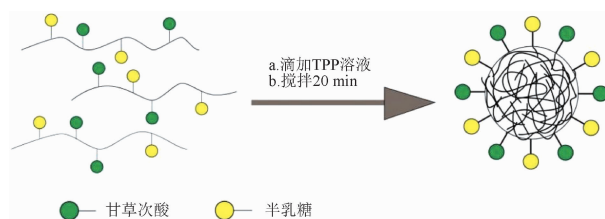


图12 壳聚糖纳米粒示意图

该系统通过 GA 受体介导的内吞作用实现了 DOX 的肝靶向递送。结果表明, GHH 纳米颗粒能明显内化到人肝细胞中, 具有剂量依赖性抗肿瘤作用。与游离 DOX 相比, DOX/GHH 显示出更高的抗肿瘤效果。

为了克服传统化疗在临床抗肿瘤治疗中的局限性, 联合用药策略作为一种新的抗肿瘤疗法被寄予厚望。Tian 等<sup>[59]</sup>制备了由二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-聚醚酰亚胺 (DSPE-PEG-PEI) 和 GA 修饰的透明质酸 (GA-HA) 组成的肝靶向纳米粒 (GH-DPP) (图 14), 用于联合递送 DOX 和 Bcl-2 siRNA。体内近红外荧光成像显示, 负载 DiR (荧光染料)

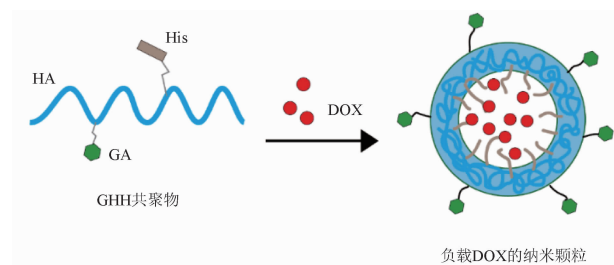


图 13 pH 响应性的多柔比星纳米粒 (DOX/GHH) 纳米粒示意图

的 GH-DPP 纳米粒可以有效积聚在肝肿瘤组织中。结果表明,该系统可以同时化疗药物和 siRNA 递送到肿瘤区域,诱导更多的细胞凋亡,并显示出更高的抗肿瘤作用。

### 2.5 GA-药物偶联物

GA 药物偶联物是指将 GA 与化疗药物通过刺激响应性

化学键连接起来,也称为前药。有些药物的溶解性很差,例如 DOX,通过形成前药的方式可以改善药物的溶解度和药动学性质。Liu 等<sup>[60]</sup>设计了一种线粒体靶向递送系统 (GNPs-P-DOX-GA) (图 15),通过增强活性氧的生成来克服 MDR (多药耐药)。结果显示,与未经 GA 修饰的载体相比,在耐药 HepG2 细胞中,GNPs-P-DOX-GA 的细胞摄取增加了近 4 倍。

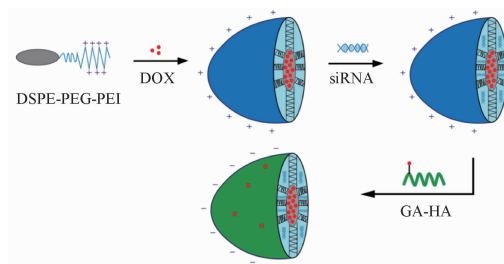


图 14 GH-DPP 纳米粒示意图

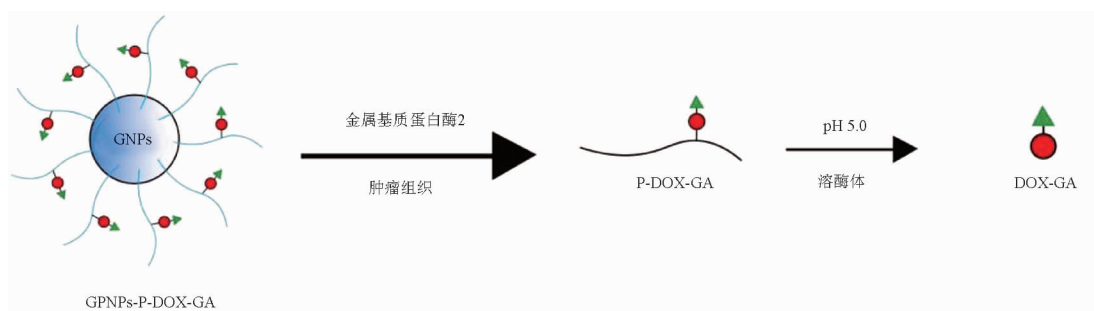


图 15 GNPs-P-DOX-GA 示意图

表柔比星 (EPI),一种有效的治疗肝癌药物。Singh 等<sup>[11]</sup>将 EPI 和 GA 化学偶联,合成了前药 EPI-GA。体内抗肿瘤实验表明,EPI-GA 具有有效的靶向性和 EPI 递送能力,GA 与药物的结合显著增强了肝癌靶向能力和治疗效果。He 等<sup>[61]</sup>构建了一种新型的复合恩替卡韦 (ETV) 和 GA 的白蛋白纳米粒 (ETV-GA-AN),以改善 ETV 在肝脏的蓄积。体外细胞摄取研究和体内组织分布实验表明,这些带负电荷的 ETV-GA-AN 可以增加 ETV 在肝细胞中的积累,改善肝脏内药物的分布。

为了降低 5-FU 的结构选择性,Liu 等<sup>[62]</sup>对其进行了结构修饰。他们将 5-FU 通过烷基链连接到 GA,以合成 GA 与 5-FU (分别为 GA-5-FU 和 GA-5-FU-GA) 的单或双共轭物。数据显示,与双取代靶向共轭物相比,单取代共轭物提高了对受试癌细胞系的抗肿瘤活性。这提示 GA-R 对 GA 的识别和结合具有饱和性,程度过高的修饰或许会导致较大空间位阻,阻碍受体与配体识别结合。

### 2.6 其他

除了上述提到的载体类型,还有一些有潜力的基于 GA 的纳米材料用于肝癌靶向治疗,例如水凝胶,金属有机骨架、树状大分子等。水凝胶是由许多交联聚合物网络组成的三维材料<sup>[63]</sup>,由于其远程可控性和快速响应性,被广泛用于药物递送领域。Chen 等<sup>[64]</sup>开发了 GA 修饰的姜黄素超分子凝

胶剂 (GA-Cur) (图 16)。由于 GA 受体在肝癌细胞中的过度表达,GA-Cur 显示出增强的细胞摄取和对肝癌细胞更好的抑制能力。

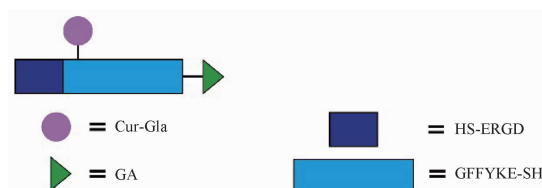


图 16 甘草次酸修饰的姜黄素超分子 (GA-Cur) 凝胶示意图

金属有机骨架 (MOF),是近二十年来发展迅速的一种配位聚合物,是由不同连接数的有机配体 (联接桥) 和金属离子结点组合而成的框架结构。Li 等<sup>[65]</sup>开发了一种 GA 修饰的金属有机骨架药物释放系统 (GA-MOFs) (图 17),以增强 5-FU 的肝靶向性。体内实验表明,5-FU@GA-MOFs 延长了药物的血液循环时间,提高了肝靶向效率,并降低了 5-FU 的心脏毒性和肾毒性。

此外,树枝状大分子 (dendrimer) 也是一种优良的递送载体,Cong 等<sup>[66]</sup>合成了 GA-PPI 树枝状大分子 (图 18),以降低细胞毒性并提高肝细胞靶向能力。实验表明,在最佳 GA

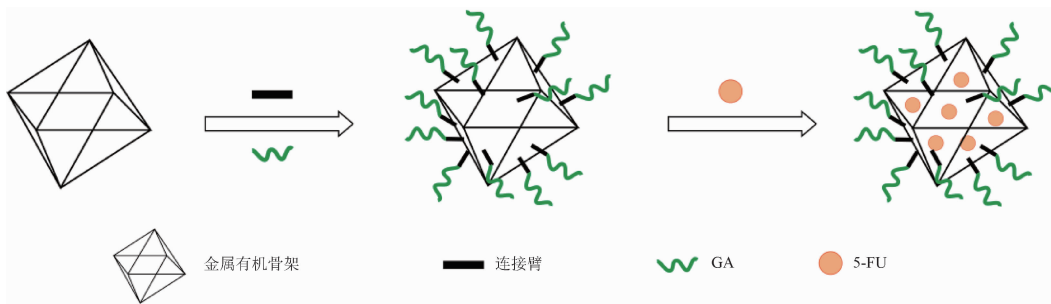


图 17 5-FU@GA-MOFs 示意图

取代度(6.31%)下,GA-PPI 比商业基准 DNA 载体 bPEI (25 000)具有更高的肝细胞转染效率(43.5%对 22.3%)和更

低的细胞毒性(94.3%对 62.5%,细胞活力)。证实 GA-PPI 树状大分子是靶向肝癌治疗的一种有前景的候选基因载体。

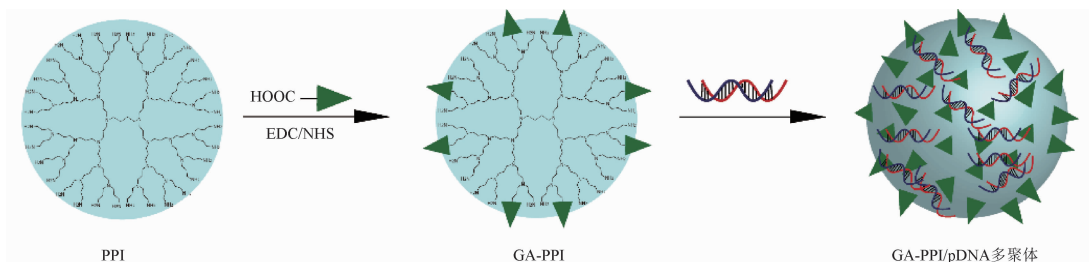


图 18 GA-PPI/pDNA 多聚体示意图

### 3 结论与展望

降低患者全身不良反应的发生概率,提高化疗药物在肿瘤部位的蓄积是当下癌症治疗领域的重要课题。纳米靶向递送系统的出现为癌症的化疗提供了一种减毒增效的有效手段。主动靶向策略通常利用肿瘤上过度表达的细胞表面受体来实现药物在靶部位的有效富集。肝癌实质性细胞表面过表达 GA 受体,国内外一系列研究从细胞水平和动物水平充分证实了 GA 介导的纳米给药体系能特异性地靶向至肝癌部位。如前所述,纳米载体种类繁多,为 GA 用于肝癌特异性靶向递送提供了机会。脂质体具有亲水腔和疏水腔,可同时负载亲水、疏水性药物。在进行靶头修饰时,GA 可以和脂质体的组成成分进行化学偶联,也可以被改造成两亲分子,通过亲疏水作用络合到脂质体上。与脂质体相比,胶束虽然能够更好地吸收药物并延长循环时间,但只能输送疏水性药物。聚合物纳米粒的 GA 修饰一般是以聚合物为主体框架,通过化学反应连接靶头,但这种修饰牵扯到发生化学反应时靶头取代度和靶头的取代位置问题。虽然纳米载体具有各自的优缺点,但 GA 靶头的修饰均涉及到复杂的化学合成,这需要从业者具备有机合成的背景知识。本文综述了 GA 具有肝癌靶向的基础理论,基于这些理论,着重介绍了其在肝癌靶向纳米递药系统中的应用。

虽然 GA 作为肝癌靶头得到了广泛应用,但目前大多数研究止步于实验室阶段,这里存在一些关键性问题亟待解决。首先,大多数研究集中在利用 GA 修饰的纳米材料以获得更好的治疗效果,然而,GA-R 的结构以及与 GA 的结合机理、配体结合后该表面受体的内化与脱落速率等问题并不清

楚。笔者认为,想要充分发挥 GA 的肝癌靶向潜力,还需要围绕 GA-R 进行更为细致的研究。其次,只有少数纳米治疗制剂进入临床试验,迄今为止,FDA 尚未批准针对肝癌的治疗性纳米材料。原因之一可能是纳米材料在体内环境的行为并不明确,需要更多的数据和研究来阐明纳米药物体内行为的细节。这将有助于评估和改善纳米药物的生物利用度、生物相容性和药代动力学,从而提高抗癌疗效。

综上所述,GA 基纳米材料给予了靶向肝癌的巨大治疗前景,但是从实验到临床仍需更为细致深刻的研究。

### REFERENCES

- [ 1 ] MAN S, LUO C, YAN M, *et al.* Treatment for liver cancer: from sorafenib to natural products [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 224: 113690. DOI:10.1016/j.ejmech.2021.113690.
- [ 2 ] KAPS L, SCHUPPAN D. Targeting cancer associated fibroblasts in liver fibrosis and liver cancer using nanocarriers [J]. *Cells*, 2020, 9(9):2027. DOI:10.3390/cells9092027.
- [ 3 ] MO D C, JIA R R, ZHONG J H. Hepatic resection compared to chemoembolization in intermediate-to advanced-stage hepatocellular carcinoma: a comment for moving forward [J]. *Hepatology*, 2019, 70(1): 446-447.
- [ 4 ] GUO P, YANG J, LIU D, *et al.* Dual complementary liposomes inhibit triple-negative breast tumor progression and metastasis [J]. *Sci Adv*, 5(3): eaav5010. DOI: 10.1126/sciadv.aav5010.
- [ 5 ] LIU X, SUN Y, XU S, *et al.* Homotypic cell membrane-cloaked biomimetic nanocarrier for the targeted chemotherapy of hepatocellular carcinoma [J]. *Theranostics*, 2019, 9(20): 5828-5838.
- [ 6 ] ELNAGGAR M H, ABUSHOUK A I, HASSAN A H E, *et al.* Nanomedicine as a putative approach for active targeting of hepa-

- tocellular carcinoma [J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 69: 91-99.
- [ 7 ] MANZARI M T, SHAMAY Y, KIGUCHI H, *et al.* Targeted drug delivery strategies for precision medicines [J]. *Nat Rev Mater*, 2021, 6(4): 351-370.
- [ 8 ] SUN Y, MA W, YANG Y, *et al.* Cancer nanotechnology: Enhancing tumor cell response to chemotherapy for hepatocellular carcinoma therapy [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2019, 14(6): 581-594.
- [ 9 ] 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.
- [10] D SOUZA A A, DEVARAJAN P V. Asialoglycoprotein receptor mediated hepatocyte targeting: strategies and applications [J]. *J Controlled Release*, 2015, 203: 126-139.
- [11] 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 (Camb)*, 2018, 54(87): 12353-12356.
- [12] WANG H, DING T, GUAN J, *et al.* Interrogation of Folic Acid-Functionalized Nanomedicines: The Regulatory Roles of Plasma Proteins Reexamined [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(11): 14779-14789.
- [13] SALVATI A, PITEK A S, MONOPOLI M P, *et al.* Transferrin-functionalized nanoparticles lose their targeting capabilities when a biomolecule corona adsorbs on the surface [J]. *Nat Nanotechnol*, 2013, 8(2): 137-143.
- [14] MAMOT C, RITSCHARD R, WICKI A, *et al.* Tolerability, safety, pharmacokinetics, and efficacy of doxorubicin-loaded anti-EGFR immunoliposomes in advanced solid tumours: a phase 1 dose-escalation study [J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(12): 1234-1241.
- [15] MAMOT C, WICKI A, HASLER-STRUB U, *et al.* A multicenter phase II trial of anti-EGFR-immunoliposomes loaded with doxorubicin in patients with advanced triple negative breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 3705. DOI: 10.1038/s41598-023-30950-z.
- [16] WANG Q S, GAO L N, ZHU X N, *et al.* Co-delivery of glycyrrhizin and doxorubicin by alginate nanogel particles attenuates the activation of macrophage and enhances the therapeutic efficacy for hepatocellular carcinoma [J]. *Theranostics*, 2019, 9(21): 6239-6255.
- [17] CHEN F, XU H Q, DUAN Z Q, *et al.* Regulation effect of glycyrrhetic acid on the expression of BLM and proliferation apoptosis and invasion migration of PC3 cells [J]. *Chin Pharm J(中国药学杂志)*, 2018, 53(5): 346-352.
- [18] SUN Y, DAI C, YIN M, *et al.* Hepatocellular carcinoma-targeted effect of configurations and groups of glycyrrhetic acid by evaluation of its derivative-modified liposomes [J]. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 1621-1632.
- [19] YAN T, HUI W, ZHU S, *et al.* Carboxymethyl chitosan based redox-responsive micelle for near-infrared fluorescence image-guided photo-chemotherapy of liver cancer [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 253: 117284. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117284.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] CHI X, LIU K, LUO X, *et al.* Recent advances of nanomedicines for liver cancer therapy [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(17): 3747-3771.
- [23] BAKRANIA A, ZHENG G, BHAT M. Nanomedicine in hepatocellular carcinoma: a new frontier in targeted cancer treatment [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 14(1): 41. DOI:10.3390/pharmaceutics14010041.
- [24] WU S Y, WANG W J, DOU J H, *et al.* Research progress on the protective effects of licorice-derived 18beta-glycyrrhetic acid against liver injury [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(1): 18-26.
- [25] SPECIALE A, MUSCARA C, MOLONIA M S, *et al.* Recent advances in glycyrrhetic acid-functionalized biomaterials for liver cancer-targeting therapy [J]. *Molecules*, 2022, 27(6): 1775. DOI:10.3390/molecules27061775.
- [26] LI X, SUN R, LIU R. Natural products in licorice for the therapy of liver diseases: Progress and future opportunities [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 144: 210-226.
- [27] 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.
- [28] ZHANG C, WANG W, LIU T, *et al.* Doxorubicin-loaded glycyrrhetic acid-modified alginate nanoparticles for liver tumor chemotherapy [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(7): 2187-2196.
- [29] NEGISHI M, IRIE A, NAGATA N, *et al.* Specific binding of glycyrrhetic acid to the rat liver membrane [J]. *Biochim et Biophys Acta (BBA) Biomembr*, 1991, 1066(1): 77-82.
- [30] 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.
- [31] WU T T, HSIEH Y H, WU C C, *et al.* Overexpression of protein kinase C alpha mRNA in human hepatocellular carcinoma: a potential marker of disease prognosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2007, 382(1-2): 54-58.
- [32] SHI L, TANG C, YIN C. Glycyrrhizin-modified O-carboxymethyl chitosan nanoparticles as drug vehicles targeting hepatocellular carcinoma [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(30): 7594-7604.
- [33] SUN Y Q, DAI C M, ZHENG Y, *et al.* Binding effect of fluorescence labeled glycyrrhetic acid with GA receptors in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Life Sci*, 2017, 188: 186-191.
- [34] 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.
- [35] SONJU J J, DAHAL A, SINGH S S, *et al.* Peptide-functionalized liposomes as therapeutic and diagnostic tools for cancer treatment [J]. *J Controlled Release*, 2021, 329: 624-644.
- [36] ZHAO L, LIANG L, GUO M, *et al.* Hepatocellular Carcinoma Targeting and Pharmacodynamics of Paclitaxel Nanoliposomes Modified by Glycyrrhetic Acid and Ferric Tetroxide [J]. *Curr Top Med Chem*, 2021, 21(14): 1268-1284.
- [37] JIANG H, LI Z P, TIAN G X, *et al.* Liver-targeted liposomes for codelivery of curcumin and combretastatin A4 phosphate: preparation, characterization, and antitumor effects [J]. *Int J Nanomed*, 2019, 14: 1789-1804.
- [38] LI L, CHEN A, LIU B, *et al.* Preparation and pharmacokinetics of glycyrrhetic acid and cell transmembrane peptides modified with liposomes for liver targeted-delivery [J]. *Biomed Mater*, 2022, 17(4): 045006. DOI:10.1088/1748-605X/ac6b73.
- [39] LI X, DIAO W, XUE H, *et al.* Improved efficacy of doxorubicin delivery by a novel dual-ligand-modified liposome in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2020, 489: 163-173.
- [40] ZHU K, ZHOU L, ZOU M, *et al.* 18-GA-Suc modified liposome

- loading cantharidin for augmenting hepatic specificity: preparation, characterization, antitumor effects, and liver-targeting efficiency [J]. *J Pharm Sci*, 2020, 109(6): 2038-2047.
- [41] GHEZZI M, PESCHINA S, PADULA C, *et al.* Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions [J]. *J Controlled Release*, 2021, 332: 312-336.
- [42] GHOSH B, BISWAS S. Polymeric micelles in cancer therapy: State of the art [J]. *J Controlled Release*, 2021, 332: 127-147.
- [43] YAN T, ZHU S, HUI W, *et al.* Chitosan based pH-responsive polymeric prodrug vector for enhanced tumor targeted co-delivery of doxorubicin and siRNA [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 250: 116781. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116781.
- [44] GUAN Q, ZHANG X, ZHANG Y, *et al.* Design, synthesis, and characterization of glycyrrhetic acid-mediated multifunctional liver-targeting polymeric carrier materials [J]. *J Mater Res*, 2020, 35(10): 1236-1248.
- [45] FAN D, YU J, YAN R, *et al.* Preparation and evaluation of doxorubicin-loaded micelles based on glycyrrhetic acid modified gelatin conjugates for targeting hepatocellular carcinoma [J]. *J Nanomater*, 2018, 2018: 1-13.
- [46] SONG J, LIU Y, LIN L, *et al.* Glycyrrhetic acid modified and pH-sensitive mixed micelles improve the anticancer effect of curcumin in hepatoma carcinoma cells [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(68): 40131-40145.
- [47] WANG K, GUO C, ZOU S, *et al.* Synthesis, characterization and *in vitro/in vivo* evaluation of novel reduction-sensitive hybrid nano-echinus-like nanomedicine [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(Suppl. 2): 659-667.
- [48] ALAMDARI S G, AMINI M, JALILZADEH N, *et al.* Recent advances in nanoparticle-based photothermal therapy for breast cancer [J]. *J Controlled Release*, 2022, 349: 269-303.
- [49] MARTINEZ-EDO G, FORNAGUERA C, BORROS S, *et al.* Glycyrrhetic acid-functionalized mesoporous silica nanoparticles for the co-delivery of DOX/CPT-PEG for targeting HepG2 cells [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(11): 1048. DOI: 10.3390/pharmaceutics12111048.
- [50] ANIRUDHAN T S, BINI B S, MANJUSHA V. Glycyrrhetic acid conjugated zein capped aminated mesoporous silica nanoparticle-based dual drug delivery system for liver: A pH-dependent triggered release [J]. *J Mole Liquids*, 2021, 340:116852. DOI: 10.1016/j.molliq.2021.116852.
- [51] LI J, CHA R, ZHANG Y, *et al.* Iron oxide nanoparticles for targeted imaging of liver tumors with ultralow hepatotoxicity [J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6(40): 6413-6423.
- [52] LIU F, YANG D, LIU Y, *et al.* Improving dispersive property, biocompatibility and targeting gene transfection of graphene oxide by covalent attachment of polyamidoamine dendrimer and glycyrrhetic acid [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, 171: 622-628.
- [53] QU Y, SUN F, HE F, *et al.* Glycyrrhetic acid-modified graphene oxide mediated siRNA delivery for enhanced liver-cancer targeting therapy [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, 139: 105036. DOI:10.1016/j.ejps.2019.105036.
- [54] CHEN K, ZHANG S, WANG H, *et al.* Fabrication of doxorubicin-loaded glycyrrhetic acid-biotin-starch nanoparticles and drug delivery into hepG2 cells *in vitro* [J]. *Starch-Strke*, 2019, 71(3-4): 1800031. DOI:10.1002/star.201800031.
- [55] PAN X, LIU S, JU L, *et al.* Preparation, evaluation, and *in vitro* cytotoxicity studies of artesunate-loaded glycyrrhetic acid decorated PEG-PLGA nanoparticles [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2020, 46(11): 1889-1897.
- [56] LI M, WANG Y, JIANG S, *et al.* Biodistribution and biocompatibility of glycyrrhetic acid and galactose-modified chitosan nanoparticles as a novel targeting vehicle for hepatocellular carcinoma [J]. *Nanomedicine*, 2020, 15(2): 145-161.
- [57] ZHENG Q C, JIANG S, WU Y Z, *et al.* Dual-targeting nanoparticle-mediated gene therapy strategy for hepatocellular carcinoma by delivering small interfering RNA [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 512. DOI:10.3389/fbioe.2020.00512.
- [58] TIAN G, SUN X, BAI J, *et al.* Doxorubicinloaded dualfunctional hyaluronic acid nanoparticles: preparation, characterization and antitumor efficacy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(1): 133-142.
- [59] TIAN G, PAN R, ZHANG B, *et al.* Liver-targeted combination therapy basing on glycyrrhetic acid-modified DSPE-PEG-PEI nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and Bcl-2 siRNA [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 4. DOI: 10.3389/fphar.2019.00004.
- [60] LIU Y, ZHOU Z, LIN X, *et al.* Enhanced reactive oxygen species generation by mitochondria targeting of anticancer drug to overcome tumor multidrug resistance [J]. *Biomacromolecules*, 2019, 20(10): 3755-3766.
- [61] HE S, LIN Q, QU M, *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.
- [62] LIU C M, HUANG J Y, SHENG L X, *et al.* Synthesis and anti-tumor activity of fluorouracil-oleanolic acid/ursolic acid/glycyrrhetic acid conjugates [J]. *Medchemcomm*, 2019, 10(8): 1370-1378.
- [63] WANG J, LU T, YANG M, *et al.* Hydrogel 3D printing with the capacitor edge effect [J]. *Sci Adv*, 5(3): eaau8769. DOI:10.1126/sciadv.aau8769.
- [64] CHEN G, LI J, CAI Y, *et al.* A glycyrrhetic acid-modified curcumin supramolecular hydrogel for liver tumor targeting therapy [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44210. DOI:10.1038/srep44210.
- [65] LI L, HAN S, YANG C, *et al.* Glycyrrhetic acid modified MOFs for the treatment of liver cancer [J]. *Nanotechnology*, 2020, 31(32): 325602. DOI:10.1088/1361-6528/ab8c03.
- [66] CONG Y, SHI B, LU Y, *et al.* One-step conjugation of glycyrrhetic acid to cationic polymers for high-performance gene delivery to cultured liver cell [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21891. DOI: 10.1038/srep21891.

(收稿日期:2022-11-21)