血清白蛋白-紫杉醇纳米粒的研究进展

黄梦玲[1]，阮海华[1]，宋　芸[2*]

（1. 天津商业大学生物技术与食品科学学院，天津市食品生物技术重点实验室，天津 300134；
2. 海南医学院海南省热带药用植物研发重点实验室，海南海口 571199）

摘要：紫杉醇属于二萜类化合物，对卵巢癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤具有良好的抗肿瘤活性。紫杉醇因难溶于水，直接用药后不良反应较大，应用受到限制。血清白蛋白纳米粒可弥补药物本身的缺陷，通过增强药物在体内的稳定性、提高生物利用度和靶向性来达到增效、减毒的目的，一定程度上可解决紫杉醇的问题。该文综述了血清白蛋白-紫杉醇纳米粒的制备工艺、修饰血清白蛋白在载紫杉醇纳米粒中的应用，以期为研发满足临床实际应用的血清白蛋白纳米载药系统提供理论指导。

关键词：血清白蛋白；紫杉醇；纳米粒；制备工艺；表面修饰

中图分类号：R971^{+}9；R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)11-1553-09

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.11.003

Research Progress of Serum Albumin-paclitaxel Nanoparticles

HUANG Mengling[1], RUAN Haihua[1], SONG Yun[2*]

(*1. Tianjin Key Lab. of Food Biotechnology, Dept. of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134;
2. Hainan Provincial Key Lab. of Research and Development of Tropical Medicinal Plants, Hainan Medical University, Haikou 571199*)

ABSTRACT: Paclitaxel belongs to the diterpenoid compounds and has good antitumor activity against various cancers such as ovarian cancer and breast cancer. Due to its poor solubility, paclitaxel has significant adverse reactions when it was used directly, limiting its clinical application. Serum albumin nanoparticles can compensate for the inherent defects of paclitaxel, enhance the stability of the drug in the body, improve its bioavailability and targeting ability, achieve the purpose of enhancing efficacy and reducing toxicity, and to some extent solve the problem of paclitaxel. This review summarizes the preparation process of serum albumin-paclitaxel nanoparticles, the application of modified serum albumin in paclitaxel-loaded nanoparticles, in order to provide theoretical guidance for the development of serum albumin based nanodrug delivery systems that meet actual clinical applications.

Key Words: serum albumin; paclitaxel; nanoparticle; preparation process; surface modification

紫杉醇（paclitaxel，**1**）为二萜类化合物，主要存在于红豆杉树皮中[1]，结构式如图1所示。**1**难溶于水，最初是溶于聚氧乙烯蓖麻油（Cremophor EL，CrEL）和无水乙醇混合液中，制成注射液（Taxol®）给药，用于转移性乳腺癌、非小细胞肺癌的治疗[2]。但CrEL会引起呼吸困难伴支气管痉挛、荨麻疹等严重过敏反应。此外，Taxol®易引起中性粒细胞减少、神经毒性、心率紊乱等不良反应[3]。为克服上述不良反应，多种新型**1**纳米制剂被开发上市。例如，绿叶制药集团研发的注射用**1**脂质体力扑素（Lipusu®）已于2004年在我国上市。该制剂将**1**包裹在由卵磷脂形成的磷脂双分子层囊泡间，提高了**1**的溶解性。但脂质体通常由磷脂和胆固醇组成，在人体内易被血浆蛋白黏附，蓄积于肝

收稿日期：2023-09-21

基金项目：国家自然科学基金项目(31870122)

作者简介：黄梦玲(1999—)，女，硕士研究生，专业方向：纳米药物制剂研究。

通信作者：宋　芸(1974—)，女，教授，从事药物化学及纳米药物制剂的研究。

E-mail：hy0207099@hainmc.edu.cn

脏、脾脏等器官中。因此，以脂质体作为药物载体存在一定弊端[4]。胶束化 **1**（Genexol®-PM）是韩国 Samyang 公司研制的 **1** 纳米制剂，于 2007 年在韩国上市；与 Taxol® 相比，Genexol®-PM 对肿瘤的抑制效果更强、毒性更低。但一项III期临床试验结果显示，Genexol®-PM 引起中性粒细胞减少这一不良反应的发生率高于 Taxol®[5]，且存在耐药性等问题。血清白蛋白（serum albumin，SA）**1** 纳米粒在提升药物溶解性、释药性能、肿瘤靶向性等方面优于上述制剂，因此在临床上得到了更广泛的应用。

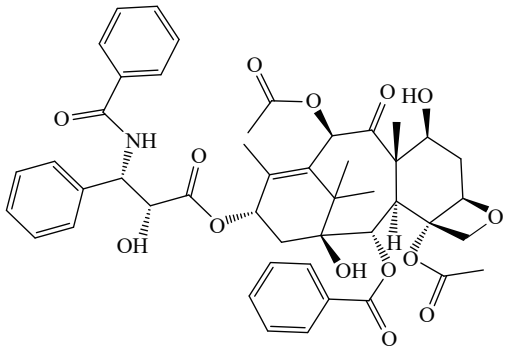


图 1　1 的化学结构

Fig.1　Chemical Structure of **1**

人血清白蛋白（human serum albumin，HSA）结合型 **1**（商品名 Abraxane®）为美国 FDA 批准上市的首个 SA 结合型抗肿瘤药，临床用于转移性乳腺癌、非小细胞肺癌及胰腺癌的治疗[6]。Abraxane® 的成功应用为 SA 纳米粒的临床应用奠定了基础，也为恶性肿瘤的控制和治疗提供了有效的解决方案。

本综述总结了 SA 与 **1** 相互作用的研究方法、SA-**1** 纳米粒的制备工艺、SA 的修饰等方面的研究现状与进展，以期为 SA 进一步应用于其他药物纳米粒的制备提供理论与技术支持。

1　血清白蛋白

SA 是血浆中含量丰富的蛋白质，较常用的是牛血清白蛋白（bovine serum albumin，BSA）和 HSA。二者结构相似，均有 3 个结构域 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ，HSA 的结构如图 2 所示。每个结构域分为 A、B 两个亚域，在这些亚域中，含有化合物的结合位点，其中位点 Ⅰ 和位点 Ⅱ 是药物的有效结合位点[7]。SA 具有无毒性、无免疫原性、生物相容性和生物降解性良好等优点，被广泛应用于药物递送。与 HSA 相比，BSA 来源更广泛、成本更低，常作为 HSA 的替代物用于临床前模型研究；但 BSA 在体内可产生免疫反应，限制了其临床应用[8]。

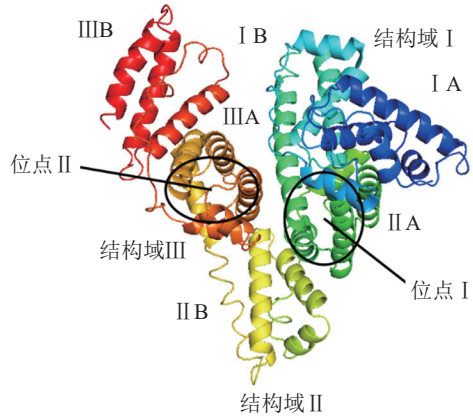


图 2　HSA 结构示意图

Fig.2　Schematic Diagram of HSA Structure

2　白蛋白与 1 相互作用的研究方法

SA 分子内部有多个可与小分子结合的位点，不同的结合位点将直接影响药物与 SA 的结合和释放。因此，研究药物与 SA 的结合机制对 SA 载药纳米粒的制备具有重要意义。目前的主要研究方法包括荧光光谱法、等温量热滴定法以及分子对接技术等。

2.1　荧光光谱法

荧光光谱法是通过药物与蛋白质相互作用引起的荧光淬灭来研究小分子或蛋白质内源性荧光特性的方法，同时可表征药物与蛋白质结合时潜在的构象变化。色氨酸（Trp）和酪氨酸（Tyr）使 SA 具有内源性荧光特性。研究表明，SA 内源性荧光随 **1** 浓度的增加而逐步淬灭，表明二者发生了相互作用；对比表观结合常数和结合位点数的相关数据，可确定此为静态荧光淬灭[9]。此法具有样品用量少、操作便捷、检测速度快等优点，是目前应用较为广泛的研究方法之一。但此法对高亲和键位灵敏度较高，

而对低亲和键位的灵敏度则较低，因此应用具有局限性[10]。

2.2 等温量热滴定法

等温量热滴定法可用于测定可溶性蛋白质和与之结合的小分子之间相互作用的热力学特性[11]。将 **1** 加入 SA 溶液中，可产生自发的放热反应。SA 与 **1** 的结合自由能（ΔG）<0、焓变（ΔH）<0、熵变（ΔS）>0，表明 SA 与 **1** 之间的结合反应是自发进行的，且主要作用力为静电引力。这种较弱的相互作用更利于 **1** 的递送以及到达药物靶点后的交换结合。此法是目前唯一可完整、准确地记录整个反应过程中热量变化的手段，且对蛋白质分子的电学性质和光谱性质无限制条件，具有高灵敏度、高度自动化、样品用量少、分析结果精确和检测时间短等优点。与荧光光谱法相比，本法所得结论的可信度更高。但等温滴定量热法所需的设备成本较高、样品制备困难，限制了其应用。

2.3 分子对接技术

分子对接是在虚拟三维空间中将配体小分子与受体大分子活性部位进行对接，以预测其结合机制的技术[12]；对接方式主要分为刚性对接、半柔性对接和柔性对接。药物与 SA 的对接主要采用半柔性对接[13]，即在对接过程中，改变小分子药物构象、固定大分子 SA 的构象。QI 等[14]研究表明 **1** 与 SA 的一级结合位点位于ⅡA 和ⅢA 亚域界面，分子的 C_{13} 侧链位于位点Ⅰ（ⅡA 亚域），为有效结合位点；而二级结合位点位于结构域Ⅰ和Ⅲ之间的间隙。**1** 与活性位点的残基共形成 5 个氢键，结合能为 －240.91 kJ/mol（－57.58 kcal/mol），低于 －20.93 kJ/mol，表明 SA 对 **1** 亲和力较好。在药物研发过程中，通常采用分子对接技术筛选出能与靶点结合的先导化合物；同时，该技术在揭示药物与机体靶标的作用机制中也发挥着重要作用。但目前此法筛选药物仍由经验筛选为主导[15]，且采用计算机模拟得到的数据是否与实测数据一致，仍是今后需验证的关键问题。

综上所述，研究蛋白质与配体间结合机制的相关方法正在不断发展进步，但单一方法往往具有使用局限性，可能导致结论的可信度低。因此，采取几种方法相互验证的方式来进行讨论，不失为一种好的选择。

3 白蛋白 -1 纳米粒的制备方法

3.1 自组装技术

自组装是指在纳米粒组分之间的相互作用或所处微环境的间接作用力影响下，自发形成纳米粒的过程[16]；这些相互作用通常包括氢键、疏水作用和范德华力。由于自组装所形成的纳米粒是由纳米胶束固化而得，所以柔性好且粒径小，可穿过生理屏障，能高效地将药物递送至组织和器官。

GONG 等[17]采用自组装技术制备了 BSA-**1** 纳米粒（BSA-**1**-NPs）。其制备工艺如图 3 所示：采用变性剂 β- 巯基乙醇还原 BSA 分子内部的二硫键，以增加 BSA 空腔的疏水性；然后通过疏水作用将 **1** 包裹在 BSA 疏水腔中形成 BSA-**1**-NPs。所得纳米粒粒径为 50 ～ 240 nm，载药量可高达 26.8%。除 β- 巯基乙醇外，二硫苏糖和半胱氨酸也常作为还原剂用于 SA 纳米粒的制备；但还原剂通常都存在潜在毒性。LI 等[18]基于 SA 在温度高于 64 ℃时易发生变性[19]的特点，建立了一种新型热驱动自组装方法：采用水浴加热代替化学变性剂，以无毒的香兰素为交联剂，即可自组装得到纳米粒。这种方法合成的纳米粒易于纯化，且无有毒溶剂残留，已被广泛应用于金属纳米粒制备。但此法制备的 SA 纳米粒的崩解和释药行为机制尚不清楚，还需进一步研究[20]。

3.2 基于二硫键形成的 Nab™ 技术

基于二硫键形成的 Nab™ 技术（nanoparticle albumin bound technology，Nab™ technology）是由 American Bioscience 公司研发的，常用于亲脂性药物的包封。如图 4 所示，先将药物溶于氯仿 - 乙醇混合溶剂中，然后将其加至 SA 水溶液中，经高速匀浆和高压均质作用形成 O/W 型乳液，再去除有机溶剂、冷冻干燥，即可得 100 ～ 200 nm 的 SA 载药纳米粒。此法制备的纳米粒保留了 SA 的生物学特征，不需使用常规的表面活性剂，缺点是仍需使用氯仿等有毒溶剂，存在溶剂残留等问题。

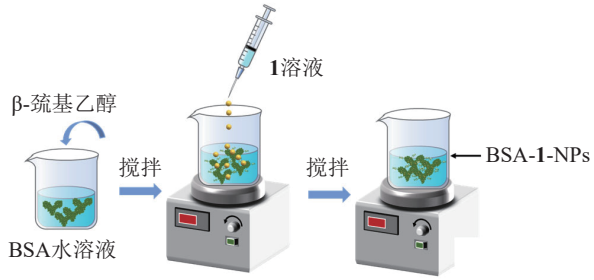


图 3　自组装制备 BSA-1-NPs 的示意图

Fig.3　Schematic Illustration of the BSA-**1**-NPs Preparation by Self-assembly

CHEN 等[21] 采用 Nab™ 技术制备了平均粒径为 (87.63±1.15) nm（PDI 为 0.185±0.009）的高载药量 **1** 棕榈酸酯 SA 纳米粒（Nab-**1**-PA）。该研究首先将 **1** 与棕榈酸共价键合，形成 **1** 棕榈酸酯（**1**-PA），显著提高了 **1** 的脂溶性。然后，采用 Nab™ 技术制备了用于静脉给药的 Nab-**1**-PA，克服了 **1** 口服时吸收率低、用药剂量大等缺点。体内试验结果显示，Nab-**1**-PA 给药剂量为 51.16 mg/kg 时，与 Abraxane®（给药剂量 20 mg/kg，该产品也采用 Nab™ 技术制备，2005 年首次在美国上市）的骨髓抑制毒性相似，但抗肿瘤作用明显增强。Nab-**1**-PA 抗肿瘤功效的提高可能是由于 **1**-PA 的高脂溶性，与 SA 结合紧密，能更多地通过主动靶向作用进入肿瘤细胞并累积，从而抑制肿瘤生长。

3.3　去溶剂化法

去溶剂化法多适用于疏水性药物 SA 纳米粒的制备，制备过程如图 5 所示。先采用乙醇、丙酮等溶剂除去 SA 表面的水化膜，使 SA 暴露更多的疏水区域，降低其溶解度以形成纳米粒[22]；然后加入交联剂戊二醛对纳米粒进行固定化处理；最后除去多余交联剂后冷冻干燥得 SA 载药纳米粒。去溶剂化法具有步骤少、操作简单、所需试剂相对较少、可用于包埋温度敏感性药物等优点[23]，是目前应用较广泛的 SA 纳米粒制备方法。LU 等[24] 采用去溶剂化法制备了 BSA-**1** 纳米粒（BSA-**1**-NPs），并对其制备工艺进行优化。当 BSA 用量为 12%、**1** 用量为 0.1%、固定化时间为 24 h 时，纳米粒平均

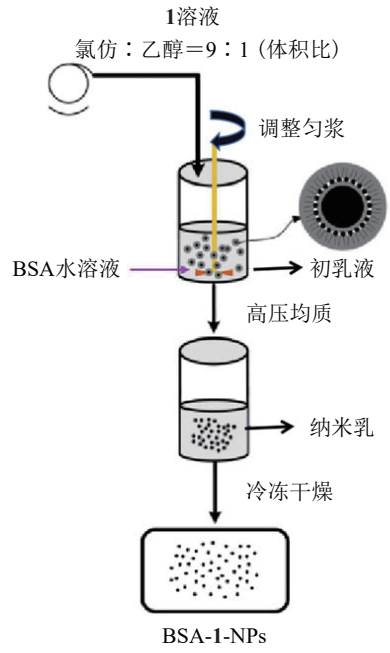


图 4　Nab™ 技术制备 BSA-1-NPs 示意图

Fig.4　Schematic Illustration of the BSA-**1**-NPs Preparation by Nab™ Technology

粒径为 100 ～ 200 nm，包封率为 66.5%～ 73.4%。**1** 和 BSA-**1**-NPs 给药后在小鼠大脑内的药量分别为 8.23%和 19.35%，表明 BSA-**1**-NPs 具有较强的穿透血脑屏障能力。

TAZHBAYEV 等[25] 针对戊二醛残留导致的毒性等问题对其优化。使用天然交联剂半胱氨酸代替戊二醛，解决了化学试剂残留导致的毒性等问题，且形成的纳米粒具有较好的物理化学性质。

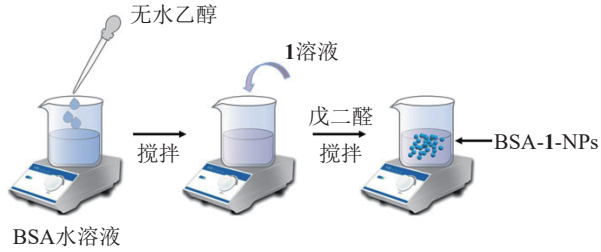


图 5　去溶剂化法制备 BSA-1-NPs 示意图

Fig.5　Schematic Illustration of the BSA-**1**-NPs Preparation by Desolvation Method

比较上述制备方法，可以看出自组装技术制备纳米粒的工艺体系简单，质量可控且易于纯化，是有望进行批量生产的制备方法。与自组装技术相比，Nab™ 技术和去溶剂化法所得产物负载药物的能力更强。Nab™ 技术对疏水性药物的包裹非常有效且已经实现工业化生产，但制备过程中高压均质工序为放热过程，需加装制冷装置降温，且高压均质会改变 SA 的二级和三级结构，导致蛋白质展开或变性。此外，Nab™ 技术制备的纳米粒胶体稳定性差，易分离为 SA 和药物，造成靶向性和 EPR 效应降低，使治疗效果下降、毒性增加。去溶剂化法简单且无有机溶剂残留，但交联使 SA 表面用于修饰的氨基酸残基减少，对 SA 的修饰造成一定限制。因此，在制备 SA 载药纳米粒时要从药物与 SA 间结合驱动力、药物理化性质和 SA 修饰等方面综合考虑，选择合适的制备方法。

4 修饰白蛋白在 1 纳米粒中的应用

多数抗肿瘤药存在作用时间短、选择性差等缺点。因此，构建长效、强靶向性的 SA 载药纳米粒是提高药物抗肿瘤效果的关键。解决办法之一是在 SA 表面通过共价偶联的方式引入其他基团，实现抗肿瘤药在体内的长循环和主动靶向。目前，常用的修饰物有聚乙二醇（PEG）、叶酸（FA）、透明质酸（HA）和细胞穿膜肽等。

4.1 PEG 修饰

PEG 是以—CH_2CH_2O—为基本结构的大分子化合物，易溶于水和极性溶剂。通过共价键偶联到 SA 分子上，可延长 SA 纳米粒的循环半衰期（高达 50 倍以上），并降低其免疫原性，促进纳米粒在肿瘤部位的累积。PEG 是少数被 FDA 批准的、可用作注射给药的药用合成聚合物之一，已在多种药物递送系统的研究中得到应用。

LEE 等 [26] 用 PEG 修饰 HSA，得相对分子质量为 100 000 ～ 150 000 的 HSA-PEG，每个 HSA 分子上可偶联 7 ～ 16 个 PEG。如图 6 所示，采用自组装技术制备的 PEG 修饰的 HSA-**1** 纳米粒（HSA-PEG/**1**-NPs）粒径为（176.0±3.6）nm，包封率和载药量为（90.5±0.6）%和（9.1±0.2）%。体内试验结果显示，HSA-PEG/**1**-NPs 试验组的荷瘤小鼠存活率比 Abraxane® 组显著提高，且 HSA-PEG/**1**-NPs 试验组未观察到小鼠死亡。体内分布试验结果显示，纳米粒主要分布在肿瘤部位且累积时间可达 96 h，这可能由于 PEG 在纳米粒表面形成的空间亲水屏障可阻止纳米粒的酶解，实现药物的缓慢释放 [27]。

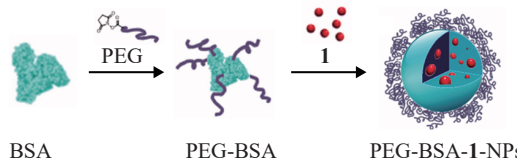


图 6 PEG-BSA-1-NPs 制备示意图

Fig.6 Schematic Illustration of PEG-BSA-**1**-NPs Preparation

4.2 FA 修饰

FA 是一种低分子的维生素，对 FA 受体具有高亲和力。FA 受体在肿瘤细胞中过表达，因此，对 SA 进行 FA 修饰可提高药物的靶向性，并促进药物吸收。FA 高效且成本低，是应用广泛的靶向修饰配体，但水溶性差限制了其应用。

ZHAO 等 [28] 对以 FA 偶联修饰得到的 BSA-**1** 纳米粒（FA-BSA-**1**-NPs）进行抗肿瘤靶向性研究。制备过程如图 7 所示，FA-BSA-**1**-NPs 的平均粒径为（217.0±3.6）nm，包封率和载药量分别为 95.3 % 和 27.2 %。FA-BSA-**1**-NPs 中 **1** 的有效浓度为 285.6 mg/L，是其固有水溶性的 910 倍。用异硫氰酸荧光素标记 FA-BSA-**1**-NPs 和 BSA-**1**-NPs 两种纳米粒，再进行细胞摄取试验，结果显示 FA-BSA-**1**-NPs 组的荧光强度显著高于 BSA-**1**-NPs 组，表明 FA 偶联的 SA 载药纳米粒具有更好的靶向性。此外，许多抗肿瘤药已经被装载到 FA 偶联白蛋白纳米粒中进行研究 [29]，包括多柔比星、顺铂、米托蒽醌等。

4.3 HA 修饰

HA 是直链高分子糖胺聚糖，可特异性地与肿瘤细胞表面受体 CD44 结合。HA 表面的羧基等基团使其在生理 pH 值下带负电荷，有利于延长载药纳米粒的血浆半衰期。因此，采用 HA 修饰 SA 载

药纳米粒，可在增强肿瘤靶向性的同时延长作用时间。此外，HA 具有透明质酸酶触发的药物释放性能。与 FA 和生物素相比，HA 经济、有效、靶向的肿瘤细胞范围广，因此应用前景良好。更重要的是，HA 已初步被大规模评价和应用，在给药系统和组织工程方面显示出良好的开发潜力和前景。

CHEN 等[30]制备的 HA 修饰的 HSA **1** 纳米粒（**1**-HNPs），平均粒径为（324.8±4.79）nm。细胞划痕试验结果显示，**1**-HNPs 和未修饰 **1**-NPs 的创面闭合率分别为（25.0±5.5）%和（55.3±15.3）%。药代动力学试验结果显示，给药后各时间点 **1**-HNPs 的血药浓度均高于 **1**-NPs，说明 **1**-HNPs 对小鼠肺中的肿瘤细胞靶向性更强。**1**-HNPs 在 **1** 剂量相对较低（0.5 mg/kg）的情况下即具有良好的抗黑色素瘤转移作用，大幅降低了 **1** 相关的全身不良反应。

4.4　细胞穿膜肽修饰

细胞穿膜肽，也称细胞转导结构域，是一类可有效穿透细胞膜并将药物分子递送到肿瘤细胞内部的小分子短肽，其多肽序列通常少于 30 个氨基酸[31]。使用细胞穿膜肽对 SA 进行修饰，就可使载体有效穿透细胞膜，提高纳米粒的肿瘤靶向性和选择性[32]。与其他修饰配体相比，多肽类的细胞穿膜肽更加经济，但多肽可靶向的肿瘤细胞相对单一且较少。

低分子鱼精蛋白（LMWP）是常用的细胞穿膜肽，LIN 等[33]采用自组装技术制备了 LMWP 修饰的 BSA-**1** 纳米粒（L-BSA-**1**-NPs）并对其进行评价。细胞摄取试验结果显示，L-BSA-**1**-NPs 组的荧光强度和药物分布明显高于未修饰的 BSA-**1**-NPs 组。使用小鼠脑微血管内皮细胞（bEnd.3 细胞）进行单层培养，构建体外血脑屏障模型；在此基础上的细胞摄取试验结果显示，人脑星形胶质母细胞瘤细胞（U87 细胞）可通过 bEnd.3 细胞形成的屏障摄取 L-BSA-**1**-NPs，且对其的摄取效率比对 BSA-**1**-NPs 高 2.5 倍。在小鼠原位胶质瘤模型中，两种纳米粒均具有颅内肿瘤靶向效应，但 BSA-**1**-NPs 在脑肿瘤中的积累明显少于 L-BSA-**1**-NPs。

4.5　其他修饰

除 PEG、FA、HA、细胞穿膜肽等可对 SA 修饰外，转铁蛋白、单克隆抗体等也可对 SA 进行修饰，从而提高白蛋白纳米粒载药系统的靶向性。表 1 总结了目前各种修饰 SA 在 **1** 纳米粒中的应用及效果。

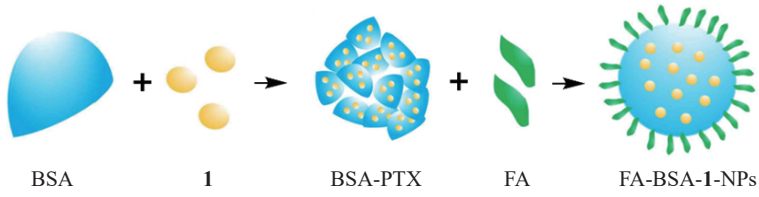


图 7　FA-BSA-1-NPs 制备示意图

Fig.7　Schematic Illustration of FA-BSA-**1**-NPs Preparation

表 1　修饰白蛋白在载 1 纳米粒中的应用

Tab.1　Application of Modified Serum Albumin in **1**-loaded Nanoparticles

修饰物	临床应用	修饰后效果	参考文献
PEG	乳腺癌，肝癌	延长作用时间	[26]
生物素	乳腺癌，肝癌	增强对肿瘤细胞的靶向性	[34]
FA	前列腺癌	增强对肿瘤细胞的靶向性	[35]
半乳糖	肝癌，肺癌	增强对肿瘤细胞的靶向性	[36]
HA	非小细胞肺癌，乳腺癌，胰腺癌	延长作用时间，增强对肿瘤细胞的靶向性	[29,37]
甘草酸、甘草次酸	肝癌	提高药物生物利用度，增强对肿瘤细胞的靶向性	[38]
细胞穿膜肽、肿瘤归巢肽	肝癌	有效穿透血脑屏障，增强对肿瘤细胞的靶向性	[39—40]
转铁蛋白、载脂蛋白	非小细胞肺癌，乳腺癌	增强对肿瘤细胞的靶向性	[36, 41—42]
单克隆抗体	转移性乳腺癌	增强对肿瘤细胞的靶向性	[43]

5 总结和展望

近年来，SA 纳米给药系统因良好的生物相容性、无免疫原性、可生物降解等特性而被广泛关注，基于 SA 纳米粒制备的各种技术被广泛开发，所制备的载药纳米粒也被用于恶性肿瘤、感染性疾病和其他疾病的靶向治疗。但常规的制备方法已不能完全满足目前对高质量纳米制剂的需要，Abraxane® 的临床用药效果仍有限。为提高 **1** 抗肿瘤效果及适用性，未来仍需对 SA **1** 纳米给药系统进行全面研究。例如，通过控制 SA 纳米粒的制备参数来调节制品的粒径大小、稳定性等，进一步增强其靶向性。

此外，HSA 的来源有限，而 BSA 会产生轻微的免疫反应，一定程度上限制了 SA 纳米粒的临床应用。有研究 [44] 开发出采用酵母细胞表达的重组人血清白蛋白（rHSA），可作为 HSA 的替代品用于 **1** 纳米粒的制备。rHSA 可降低制备过程中的批次间差异，有利于工业应用，是 SA-**1** 纳米粒的一个重要发展方向，并将在未来恶性肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用。

参考文献：

[1] YANG Y H, MAO J W, TAN X L. Research progress on the source, production, and anti-cancer mechanisms of paclitaxel [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, **18**(12): 890-897.

[2] ZHOU M J, HAN S P, ARAS O, *et al*. Recent advances in paclitaxel-based self-delivery nanomedicine for cancer therapy [J]. *Curr Med Chem*, 2021, **28**(31): 6358-6374.

[3] ZHANG D Y, DMELLO C, CHEN L, *et al*. Ultrasound-mediated delivery of paclitaxel for glioma: a comparative study of distribution, toxicity, and efficacy of albumin-bound versus cremophor formulations [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, **26**(2): 477-486.

[4] LIU G Y, HOU S L, TONG P H, *et al*. Liposomes: preparation, characteristics, and application strategies in analytical chemistry [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2022, **52**(2): 392-412.

[5] ALI S, ALBEKAIRI N A, AL-ENAZY S, *et al*. Formulation effects on paclitaxel transfer and uptake in the human placenta [J]. *Nanomedicine*, 2021, **33**: 102354.

[6] HAMA M, ISHIMA Y, CHUANG V T G, *et al*. Evidence for delivery of abraxane via a denatured-albumin transport system [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, **13**(17): 19736-19744.

[7] SUDLOW G, BIRKETT D J, WADED N. The characterization of two specific drug binding sites on human serum albumin [J]. *Mol Pharmacol*, 1975, **11**(6): 824-832.

[8] YANG S J, CHANG C H, YOUNG T H, *et al*. Human serum albumin-based nanoparticles alter raloxifene administration and improve bioavailability [J]. *Drug Deliv*, 2022, **29**(1): 2685-2693.

[9] SATO T, OKAZAKI M, SANO J, *et al*. Binding affinities of paclitaxel and docetaxel for generic and nanoparticle albumin-bound paclitaxel-derived albumin from human serum [J]. *Biomed Rep*, 2021, **14**(4): 35.

[10] BROWN M P, ROYER C. Fluorescence spectroscopy as a tool to investigate protein interactions [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1997, **8**(1):45-49.

[11] A ISLAM S T, ZHANG J, TONIN F, *et al*. Isothermal titration calorimetric assessment of lignin conversion by laccases [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2022, **119**(2): 493-503.

[12] ROSELL M, FERNANDEZ-RECIO J. Docking approaches for modeling multi-molecular assemblies [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2020, **64**: 59-65.

[13] LI T C, GUO R R, ZONG Q D, *et al*. Application of molecular docking in elaborating molecular mechanisms and interactions of supramolecular cyclodextrin [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, **276**: 118644.

[14] QI H Y, WANG Y, WANG X W, *et al*. The different interactions of two anticancer drugs with bovine serum albumin based on multi-spectrum method combined with molecular dynamics simulations [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, **259**: 119809.

[15] SHOICHET B K. Virtual screening of chemical libraries [J]. *Nature*, 2004, **432**(7019): 862-865.

[16] PRASANNA G, JING P. Polyphenols redirects the self-assembly of serum albumin into hybrid nanostructures [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, **164**: 3932-3942.

[17] GONG G M, XU Y, ZHOU Y Y, *et al*. Molecular switch for the assembly of lipophilic drug incorporated plasma protein nanoparticles and *in vivo* image [J]. *Biomacromolecules*, 2012, **13**(1): 23-28.

[18] LI F, YEH S, SHI Q, *et al*. A novel thermal-driven self-assembly method to prepare albumin nanoparticles: formation kinetics, degradation behavior and formation mechanism

［J］. *AAPS PharmSciTech*, 2022, **23**(7): 250.

［19］ DEWIT J N, KLARENBEEK G. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins［J］. *J Dairy Sci*, 1984, **67**(11): 2701-2710.

［20］ LI F, ZHENG C L, XIN J B, *et al*. Enhanced tumor delivery and antitumor response of doxorubicin-loaded albumin nanoparticles formulated based on a Schif base［J］. *Int J Nanomedicine*, 2016, **11**: 3875-3890.

［21］ CHEN H, HUANG S, WANG H, *et al*. Preparation and characterization of paclitaxel palmitate albumin nanoparticles with high loading efficacy: an *in vitro* and *in vivo* anti-tumor study in mouse models［J］. *Drug Deliv*, 2021, **28**(1): 1067-1079.

［22］ TIWARI R, VISWANATHAN K, GOUR V, *et al*. Cisplatin-loaded albumin nanoparticle and study their internalization effect by using beta-cyclodextrin［J］. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021, **41**(4): 393-400.

［23］ ZAHER S, SOLIMAN M E, ELSABAHY M, *et al*. Sesamol loaded albumin nanoparticles: a boosted protective property in animal models of oxidative stress［J］. *Pharmaceuticals*（Basel）, 2022, **15**(6): 733.

［24］ LU L, SHEN X K, TAO B L, *et al*. The nanoparticle-facilitated autophagy inhibition of cancer stem cells for improved chemotherapeutic effects on glioblastomas［J］. *J Mater Chem B*, 2019, **7**(12): 2054-2062.

［25］ TAZHBAYEV Y, MUKASHEV O, BURKEEV M, *et al*. Hydroxyurea-loaded albumin nanoparticles: preparation, characterization, and *in vitro* studies［J］. *Pharmaceutics*, 2019, **11**(8): 410.

［26］ LEE J E, KIM M G, JANG Y L, *et al*. Self-assembled PEGylated albumin nanoparticles（SPAN）as a platform for cancer chemotherapy and imaging［J］. *Drug Deliv*, 2018, **25**(1): 1570-1578.

［27］ ZAKHARCHENKO A, XUE Y F, KEENEY S, *et al*. Poly-2-methyl-2-oxazoline–modified bioprosthetic heart valve leaflets have enhanced biocompatibility and resist structural degeneration［J］. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, **119**(6): e2120694119.

［28］ ZHAO D M, ZHAO X H, ZU Y G, *et al*. Preparation, characterization, and *in vitro* targeted delivery of folate-decorated paclitaxel-loaded bovine serum albumin nanoparticles［J］. *Int J Nanomedicine*, 2010, **5**: 669-677.

［29］ LEI C, LIU X R, CHEN Q B, *et al*. Hyaluronic acid and albumin based nanoparticles for drug delivery［J］. *J Control Release*, 2021, **331**: 416-433.

［30］ CHEN X, WANG M, HU Y, *et al*. Low-dose paclitaxel via hyaluronan-functionalized bovine serum albumin nanoparticulate assembly for metastatic melanoma treatment［J］. *J Mater Chem B*, 2020, **8**(10): 2139-2147.

［31］ TROFIMENKO E, GRASSO G, HEULOT M, *et al*. Genetic, cellular, and structural characterization of the membrane potential-dependent cell-penetrating peptide translocation pore［J］. *Elife*, 2021, **10**: e69832.

［32］ FU Y, YANG S Y, LIU Y N, *et al*. Peptide modified albumin-paclitaxel nanoparticles for improving chemotherapy and preventing metastasis［J］. *Macromol Biosci*, 2022, **22**(3): e2100404.

［33］ LIN T T, ZHAO P F, JIANG Y F, *et al*. Blood-brain-barrier-penetrating albumin nanoparticles for biomimetic drug delivery via albumin-binding protein pathways for antiglioma therapy［J］. *ACS Nano*, 2016, **10**(11): 9999-10012.

［34］ WANG D F, LIANG N, KAWASHIMA Y, *et al*. Biotin-modified bovine serum albumin nanoparticles as a potential drug delivery system for paclitaxel［J］. *J Mate Sci*, 2019, **54**(11): 8613-8626.

［35］ HAN M M, JI X M, LI J F, *et al*. Lipoprotein-inspired nanocarrier composed of folic acid-modified protein and lipids: preparation and evaluation of tumor-targeting effect［J］. *Int J Nanomedicine*, 2020, **15**: 3433-3445.

［36］ LUIS DE REDÍN I, EXPÓSITO F, AGÜEROS M, *et al*. *In vivo* efficacy of bevacizumab-loaded albumin nanoparticles in the treatment of colorectal cancer［J］. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, **10**(3): 635-645.

［37］ HU Y, CHEN X, XU Y Y, *et al*. Hierarchical assembly of hyaluronan coated albumin nanoparticles for pancreatic cancer chemoimmunotherapy［J］. *Nanoscale*, 2019, **11**(35): 16476-16487.

［38］ WU M F, ZHONG C, DENG Y P, *et al*. Resveratrol loaded glycyrrhizic acid-conjugated human serum albumin nanoparticles for tail vein injection Ⅱ: pharmacokinetics, tissue distribution and bioavailability［J］. *Drug Deliv*, 2020, **27**(1): 81-90.

［39］ ZHANG Z, YU P, GOU Y, *et al*. Novel brain-tumor-inhibiting copper（Ⅱ）compound based on a human serum albumin（HSA）-cell penetrating peptide conjugate［J］. *J Med Chem*, 2019, **62**(23): 10630-10644.

[40] GREGORY J V, KADIYALA P, DOHERTY R, *et al*. Systemic brain tumor delivery of synthetic protein nanoparticles for glioblastoma therapy [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 5687.

[41] JIN X Z, YU J, YIN M J, *et al*. Combined ultrasound treatment with transferrin-coupled nanoparticles improves active targeting of 4T1 mammary carcinoma cells [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, **20**: 1-10.

[42] HAN S D, LI X P, ZHOU C H, *et al*. Further enhancement in intestinal absorption of paclitaxel by using transferrin-modified paclitaxel nanocrystals [J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, **3**(7): 4684-4695.

[43] SCHMID P, CORTES J, PUSZTAI L, *et al*. Pembrolizumab for early triple-negative breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2020, **382**(9): 810-821.

[44] WANG D, FENG W F, WANG X W, *et al*. Promoted antitumor therapy on pancreatic cancer by a novel recombinant human albumin-bound miriplatin nanoparticle [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2021, **167**: 106000.

