

甘草多糖对CCl₄诱导急性肝损伤模型小鼠的保护作用及其机制研究^Δ

陈冬雪^{1*}, 陈亮^{2#}(1.北华大学药学院,吉林 吉林 132013;2.吉林市中心医院第一重症监护室,吉林 吉林 132000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1322-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.08

摘要 目的:研究甘草多糖对急性肝损伤模型小鼠的保护作用及其可能的作用机制。方法:60只ICR小鼠随机分为正常对照(生理盐水)组、模型(生理盐水)组、联苯双酯(阳性药物,100 mg/kg)组和甘草多糖高、中、低剂量(400、200、100 mg/kg)组,ig给药,每天1次。15 d后除正常对照组外其余各组小鼠ip CCl₄诱发急性肝损伤模型,测定肝脏指数,检测血清中天冬氨酸转氨酶(AST)、谷氨酸转氨酶(ALT)及肝脏组织中一氧化氮合酶(NOS)、一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)水平。结果:与正常对照组比较,模型组小鼠的肝脏指数,血清中AST、ALT及肝脏组织中NOS、NO、MDA水平升高,肝脏组织中SOD、GSH-Px水平降低($P < 0.05$),肝细胞肿胀、变性、坏死,出现明显炎症损伤。与模型组比较,甘草多糖各剂量组小鼠肝脏指数降低,其中高、中剂量组差异有统计学意义($P < 0.05$);甘草多糖各剂量组小鼠血清中AST、ALT水平及肝脏组织中NOS、NO、MDA水平降低,肝脏组织中SOD和GSH-Px水平升高($P < 0.05$),肝细胞肿胀、变性、坏死程度减轻,病理损伤得到改善。结论:甘草多糖对CCl₄诱导的小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用;其机制可能与甘草多糖抗氧化,降低肝脏组织中NOS、NO水平,减少自由基的产生有关。

关键词 甘草多糖;急性肝损伤;抗氧化;自由基;四氯化碳;小鼠

Study on Protective Effect of *Glycyrrhiza uralensis* Polysaccharide on CCl₄ Induced Acute Liver Injury in Mice and Its Mechanism

CHEN Dongxue¹, CHEN Liang²(1.Pharmaceutical College, Beihua University, Jilin Jilin 132013, China;2.First Intensive Care Unit, Jilin Center Hospital, Jilin Jilin 132000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effect of *Glycyrrhiza uralensis* polysaccharide (GUP) on CCl₄ induced acute liver injury in mice and its mechanism. METHODS: 60 ICR mice were randomly divided into normal control group (normal saline), model group (normal saline), bifendate group (positive drug, 100 mg/kg) and GUP high-dose, medium-dose and low-dose groups (400, 200 and 100 mg/kg). They were given relevant medicine intragastrically once a day. 15 d later, acute liver injury model was induced by intraperitoneal injection of CCl₄ in those groups except for normal control group, and liver index was determined. The levels of AST and ALT in serum, the NOS, NO, SOD, GSH-Px and MDA levels in liver tissues were detected. RESULTS: Compared with normal control group, the liver index, the levels of AST and ALT in serum and NOS, NO and MDA in liver tissue increased in model group, while SOD and GSH-Px levels in liver tissue decreased ($P < 0.05$); liver cells became swelling, degeneration and necrosis, showed obvious inflammatory injury. Compared with model group, the liver index of GUP groups decreased, there was statistical significance in GUP high-dose medium-dose groups ($P < 0.05$); the levels of AST and ALT in serum and NOS, NO and MDA in liver tissue of mice decreased in GUP groups, while the level of SOD and GSH-Px in liver tissue increased ($P < 0.05$); liver cellular swelling, degeneration and necrosis relieved, and pathological injury had been improved. CONCLUSIONS: GUP has a certain protective effect on CCl₄-induced acute liver injury in mice and its protective effect may be related to antioxidation, decrease of NOS and NO levels, and reduction of the production of free radicals.

KEYWORDS *Glycyrrhiza uralensis* polysaccharide; Acute liver injury; Antioxidation; Free radicals; CCl₄; Mice

甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)又名国老、甜根子、甜草、乌拉尔甘草等,为豆科植物。其用历史悠久,具有润肺止咳、补脾益气、缓急止痛及泻火解毒之功效^[1]。现代药学研究表明,甘草中甘草酸、甘草苷等活性成分具有抗炎、解毒、抗氧化、降血脂和改善胰岛素抵抗等多种药理活性^[2];而关于甘草多糖(*Glycyrrhiza uralensis* polysaccharide)的活性研究则主要集中在提高免疫力、抗肿瘤等方面,其对肝损伤保护作用方面的报道较少^[3]。鉴于植物多糖生物活性的多样化,且已有大量

关于植物多糖具有保肝作用的文献报道^[4],本文以甘草多糖为研究对象,探讨其对四氯化碳(CCl₄)诱导的急性肝损伤模型小鼠的保护作用及相关机制,为研究和开发以甘草多糖为主要活性成分的保肝药物奠定实验基础。

1 材料

1.1 仪器

Allegra™64R型高速冷冻离心机、DU640型紫外-可见分光光度计(美国Beckman公司);DK-S24型恒温水浴锅(上海基玮试验仪器设备有限公司);7060型全自动生化分析仪(日本Hitachi公司);高通量组织匀浆器(德国Qiagen公司)。

1.2 药材、药品与试剂

甘草购于本地药材市场,由吉林大学药学院王华副教授鉴定为豆科植物*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.;联苯双酯(哈尔滨三精制厂);CCl₄(北京化工厂);谷氨酸转氨酶(ALT,批

^Δ 基金项目:吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目(No.吉教科合字[2014]第203号)

* 实验师,硕士。研究方向:天然活性产物的保肝及抗肿瘤作用。电话:0432-64608281。E-mail:chendongxuejl@126.com

通信作者:主治医师,硕士。研究方向:重症急性胰腺炎肠内外营养。E-mail:chenliang1979000@126.com

号:20140816)、天冬氨酸转氨酶(AST,批号:20140911)、超氧化物歧化酶(SOD,批号:20140915)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px,批号:20141012)和丙二醛(MDA,批号:20141021)检测试剂盒均购自南京建成生物研究所;一氧化氮合酶(NOS,批号:20150321)、一氧化氮(NO,批号:20150428)检测试剂盒均购自武汉博士德有限公司。

1.3 动物

ICR小鼠60只,♂,6~8周龄,体质量18~22g,购于北京维通利华公司[动物合格证号:SCXK(京)2012-0001],在实验前常规条件下适应性饲养1周。

2 方法

2.1 甘草多糖的制备^[1]

甘草用蒸馏水洗净,在80℃下烘干,粉碎过40目筛,备用。称取甘草粉末100g,加10倍体积的蒸馏水,回流提取2h,过滤。滤液浓缩至原体积的1/5,离心(离心半径为8cm,3000r/min,20min,下同),收集上清液,加入无水乙醇使其浓度为75%;室温下放置过夜,离心,收集沉淀。经除蛋白、脱水及脱脂等步骤后,最终得到浅灰色粉末,收率为2.76%,经紫外-分光光度仪测定多糖含量为85.6%。

2.2 动物分组、给药及模型建立

60只ICR小鼠随机分为正常对照组、模型组、联苯双酯(阳性药物,100mg/kg)组和甘草多糖高、中、低剂量(400、200、100mg/kg)组,ig给药,每天1次,连续15d;正常对照组和模型组ig等体积生理盐水。实验中各组小鼠给药剂量根据预实验结果而定。末次给药1h后,模型组、联苯双酯组及甘草多糖各剂量组小鼠均ip10%CCl₄,注射剂量为2.0ml/kg;正常对照组小鼠ip等体积橄榄油。

2.3 指标检测

2.3.1 血清中ALT、AST水平 于造模6h后进行摘眼球取血,4℃离心,吸取上层血清并分装入1.5ml离心管中,低温冰箱中保存,备用。采用生化法按试剂盒说明书的要求测定血清中ALT和AST水平。

2.3.2 肝脏指数 取血完成后,采用断颈法处死小鼠,立即剖腹将肝脏取出,在冰生理盐水中将表面残留血液洗净,滤纸吸干,称取肝质量,计算肝脏指数:肝脏指数=肝质量(g)/体质量(g)×100%。

2.3.3 肝脏组织中NOS、NO、SOD、GSH-Px、MDA水平 取肝组织,加适量预冷的生理盐水,制备10%肝脏组织匀浆,4℃离心,取上清。采用生化法按试剂盒说明书的要求测定肝脏组织匀浆中NOS、NO、SOD、GSH-Px、MDA水平。

2.4 形态学观察

采用苏木精-伊红(HE)染色法。取小鼠肝脏组织,生理盐水冲洗,滤纸拭干后,在10%中性福尔马林溶液中浸泡固定,经常规石蜡包埋、切片等操作后,进行染色。于400倍光镜下观察肝组织形态改变,照相并保留照片。

2.5 统计学方法

用SPSS 15.0软件进行分析。所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间单因素比较先用单因素方差分析其正态分布,然后以LSD法进行组间比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 甘草多糖对小鼠血清中AST、ALT水平的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中AST、ALT水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,联苯双酯组及甘草多糖高、中、低剂量组小鼠血清中AST、ALT水平明显降低($P < 0.05$),且甘草多糖的作用呈剂量依赖性增强。各组小鼠血清中AST、ALT水平的测定结果见表1。

表1 各组小鼠血清中AST、ALT水平的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Determination results of serum levels of AST and ALT of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	AST,U/L	ALT,U/L
正常对照组		47.69±8.43	76.49±9.35
模型组		230.72±30.59*	303.81±35.79*
联苯双酯组	100	142.31±18.08 [#]	197.25±22.94 [#]
甘草多糖高剂量组	400	82.06±10.81 [#]	79.32±9.60 [#]
甘草多糖中剂量组	200	153.18±19.67 [#]	185.87±21.11 [#]
甘草多糖低剂量组	100	196.99±21.15 [#]	211.65±23.53 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

3.2 甘草多糖对小鼠肝脏指数的影响

正常对照组、模型组、联苯双酯组及甘草多糖各剂量组间小鼠体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$);而模型组小鼠肝质量、肝脏指数与正常对照组比较显著增加($P < 0.05$),提示小鼠急性肝损伤模型已成功建立;与模型组比较,联苯双酯组及甘草多糖高、中剂量组小鼠肝质量和肝脏指数明显降低($P < 0.05$),而甘草多糖低剂量组小鼠肝质量和肝脏指数虽也有一定程度的降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组小鼠肝脏指数测定结果见表2。

表2 各组小鼠肝脏指数测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Determination results of liver index of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	体质量,g	肝质量,g	肝脏指数,%
正常对照组		29.42±3.86	1.47±0.21	5.00±0.53
模型组		29.21±4.05	1.73±0.28*	5.92±0.84*
联苯双酯组	100	28.93±3.14	1.53±0.27 [#]	5.29±0.75 [#]
甘草多糖高剂量组	400	29.23±2.92	1.57±0.24 [#]	5.37±0.94 [#]
甘草多糖中剂量组	200	29.52±3.85	1.61±0.19 [#]	5.45±0.36 [#]
甘草多糖低剂量组	100	28.65±3.64	1.68±0.22	5.86±0.82

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

3.3 甘草多糖对小鼠肝脏组织中NOS、NO水平的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠肝脏组织中NOS、NO水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,联苯双酯组及甘草多糖高、中、低剂量组小鼠肝脏组织中NOS和NO水平降低($P < 0.05$),且甘草多糖的作用效果具有剂量依赖性。各组小鼠肝脏组织中NOS、NO水平的测定结果见表3。

表3 各组小鼠肝脏组织中NOS、NO水平的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 3 Determination results of levels of NOS and NO in liver tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	NOS,U/mg prot	NO,μg/g prot
正常对照组		2.31±0.33	4.31±0.56
模型组		3.15±0.47*	7.95±1.28*
联苯双酯组	100	2.27±0.38 [#]	4.19±0.86 [#]
甘草多糖高剂量组	400	2.42±0.31 [#]	5.12±0.74 [#]
甘草多糖中剂量组	200	2.66±0.44 [#]	5.82±0.84 [#]
甘草多糖低剂量组	100	2.83±0.37 [#]	6.98±0.79 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

3.4 甘草多糖对小鼠肝脏组织中SOD、GSH-Px和MDA水平的影响

模型组小鼠肝脏组织中SOD、GSH-Px水平与正常对照组

比较显著降低,而MDA水平则显著升高($P<0.05$);与模型组比较,甘草多糖高、中、低剂量组小鼠肝脏组织中SOD、GSH-Px水平显著升高,MDA水平显著下降($P<0.05$),且甘草多糖的作用效果具有剂量依赖性。各组小鼠肝脏组织中SOD、GSH-Px和MDA水平的测定结果见表4。

表4 各组小鼠肝脏组织中SOD、GSH-Px和MDA水平的测定结果($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 4 Determination results of the levels of SOD, GSH-Px and MDA in liver tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	SOD,U/mg prot	GSH-Px,U/mg prot	MDA,mmol/mg prot
正常对照组		87.52±10.41	150.03±20.27	6.29±0.84
模型组		16.38±2.34*	69.54±8.46*	12.25±1.26*
联苯双酯组	100	83.33±9.65*	135.81±15.28*	7.86±0.63*
甘草多糖高剂量组	400	81.06±11.82*	143.77±19.26*	7.16±0.52*
甘草多糖中剂量组	200	73.25±10.29*	131.92±15.15*	8.48±0.76*
甘草多糖低剂量组	100	58.81±8.98*	122.42±17.84*	9.54±0.69*

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$

Note:vs. normal control group,* $P<0.05$;vs. model group,# $P<0.05$

3.5 甘草多糖对小鼠肝脏组织病理形态的影响

正常对照组小鼠肝细胞形态及结构正常,细胞大小均匀、分界清楚、排列整齐,细胞核大而圆;模型组小鼠肝细胞肿胀、变性、坏死,细胞核出现固缩溶解现象,大量炎细胞浸润;联苯双酯组及甘草多糖各剂量组小鼠肝细胞病理损伤程度明显减轻,肝细胞肿胀、变性及坏死程度均有所减轻,炎性细胞浸润程度也显著减轻。形态学观察结果见图1。

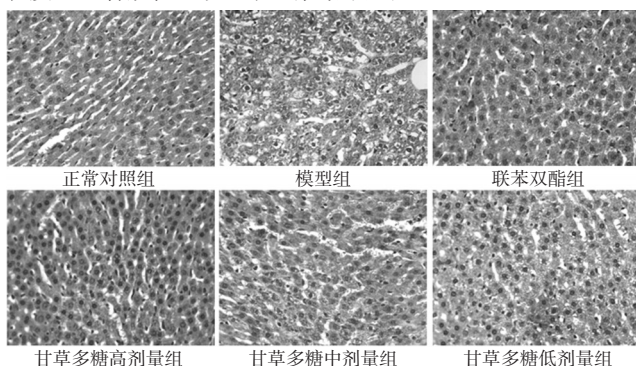


图1 各组小鼠肝脏组织形态学观察结果(HE染色,×400)

Fig 1 Morphology of liver tissue of mice in each group (HE staining, ×400)

4 讨论

肝脏是体内最大的代谢器官,外源化学物及人体代谢产生的有毒、有害物质都在肝脏内贮留或转化,从而引起肝脏的慢性、急性损伤,进而导致肝细胞凋亡、坏死、纤维化及癌变等病理改变^[6]。目前为止,肝损伤的发病机制尚未完全阐明,尚缺乏特效的治疗药物。因此,如何进行有效的预防,开发、寻找疗效确定的保肝、护肝药物已成为全世界肝病研究者所关注的焦点。联苯双酯为我国首先研制的保肝药物,临床应用多年,疗效肯定,故在评价药物对CCl₄诱导的急性肝损伤模型动物的保护作用时多选其作为阳性药物^[7-8]。

外源化合物CCl₄可直接损伤肝细胞,在肝脏中转化为CCl₃自由基和Cl自由基,从而破坏细胞膜上的蛋白质和脂质,增加细胞膜的通透性,使原本位于肝细胞内的AST、ALT外流入血,导致血清中AST、ALT水平升高^[9-10]。本研究采用ip CCl₄的方法诱导小鼠急性肝损伤模型,诱导后模型组小鼠肝脏指数、血清中AST和ALT水平与正常对照组比较均显著升高($P<0.05$),提示造模成功;与模型组比较,甘草多糖高、中剂量

组小鼠肝脏指数、血清中AST、ALT水平均降低($P<0.05$),且具有剂量依赖性,表明甘草多糖对CCl₄诱导的小鼠急性肝损伤模型具有一定的保护作用。

自由基为机体代谢过程中所产生的具有强氧化性的物质,而脂质过氧化是由自由基所导致的一系列反应,在肝损伤进程中自由基和脂质过氧化均扮演着重要角色。NO合成限速酶NOS是机体合成NO的关键酶,可催化L-精氨酸生成NO^[11]。NO对肝脏表现为双重作用:在生理浓度下,NO发挥保肝、护肝的作用;而在高于生理浓度时,NO可以与体内的活性氧发生反应,生成过氧亚硝基阴离子自由基,该自由基具有抑制肝细胞蛋白质的合成和损伤DNA结构等细胞毒性,从而导致肝细胞凋亡和坏死^[12]。本研究结果显示,与模型组比较,甘草多糖各剂量组小鼠肝脏组织中NOS、NO水平明显降低($P<0.05$),这提示甘草多糖对CCl₄诱导的小鼠急性肝损伤模型的保护作用与其抑制NOS、NO的生成有关。SOD、GSH-Px是体内重要的抗氧化类酶,可以有效地清除机体产生的自由基,抑制自由基启动的脂质过氧化反应^[13]。当肝细胞受到自由基攻击时,SOD、GSH-Px会因过度消耗而逐渐减少。体内SOD和GSH-Px水平越高,表明自由基清除的速度就越快。MDA是体内自由基攻击脂质产生脂质过氧化物的代谢终产物,MDA水平的高低可以反映细胞氧化损伤的程度^[14]。本研究结果显示,与模型组比较,甘草多糖各剂量组小鼠肝组织中SOD、GSH-Px水平升高,而MDA水平降低,提示甘草多糖对急性肝损伤的保护作用可能与抗氧化作用有关。

综上所述,甘草多糖对CCl₄诱导的小鼠急性肝损伤具有保护作用;该保护作用可能与其抗氧化,抑制NOS、NO生成,减少自由基的产生等有关。

参考文献

- [1] Link P, Wetterauer B, Fu Y, et al. Extracts of Glycyrrhiza uralensis and isoliquiritigenin counteract amyloid- β toxicity in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Planta Med*, 2015, 81(5):357.
- [2] 韩瑶琳,王彬,王政,等.甘草酸药理作用的研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2012, 21(21):2 499.
- [3] 程安玮,金征宇,万发春.甘草多糖对小鼠腹腔巨噬细胞NO、iNOS及iNOS mRNA表达的影响[J]. *食品科学*, 2009, 30(21):351.
- [4] Dong Y, Huang J, Lin X, et al. Hepatoprotective effects of Yulansan polysaccharide against isoniazid and rifampicin-induced liver injury in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(1):201.
- [5] 刘晔玮,宋海,马振远,等.甘草多糖提取工艺的研究[J]. *中成药*, 2006, 28(5):729.
- [6] Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2003, 33(2):105.
- [7] 冀润利,赵青娥.水飞蓟素对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用[J]. *中国应用生理学杂志*, 2012, 28(3):279.
- [8] 许金鹏,张慧慧,李朝品,等.原卟啉钠对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(5):168.
- [9] Beek JH, Moor MH, Geus EJ, et al. The genetic architecture of liver enzyme levels: GGT, ALT and AST[J]. *Behav Genet*, 2013, 43(4):329.
- [10] Costa MM, França RT, Da Silva AS, et al. *Rangelia vitalii*: changes in the enzymes ALT, CK and AST during the acute phase of experimental infection in dogs[J]. *Rev*

叶酸修饰多西紫杉醇纳米脂质体对肝癌 Bel-7402 细胞的体内外靶向性研究^Δ

计竹娃*, 钦富华, 夏晓静, 胡英[#](浙江医药高等专科学校生物与制药学院, 浙江宁波 315100)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1325-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.09

摘要 目的:研究叶酸(FA)修饰多西紫杉醇(DOC)纳米脂质体(L-DOC-FA)对肝癌 Bel-7402 细胞的体内外靶向性。方法:采用细胞活性检测试剂盒分别检测 0、1、2、5、10、20 μg/ml DOC、L-DOC、L-DOC-FA 培养细胞 24 h 后的细胞活性,计算细胞存活率;利用荧光素异硫氰酸酯标记 L-DOC、L-DOC-FA,检测肝癌细胞 Bel-7402 对 L-DOC、L-DOC-FA 的摄取率;¹²⁵I 标记 L-DOC、L-DOC-FA,检测其在皮下肿瘤组织中的含量;取 28 只 Balb/c 裸鼠,背部 ih 肝癌细胞悬液复制肿瘤模型,模型复制成功后将裸鼠分为空白对照(生理盐水)组、DOC(3 mg/kg)、L-DOC(3 mg/kg,以 DOC 计)和 L-DOC-FA(3 mg/kg,以 DOC 计)组,每天尾 iv 相应药物 1 次,连续 30 d,测定各组裸鼠肿瘤的相对瘤体积。结果:DOC、L-DOC、L-DOC-FA 对肝癌 Bel-7402 细胞活性均有抑制作用,细胞存活率降低且呈浓度依赖性;与 DOC、L-DOC 比较,L-DOC-FA 作用后细胞活性更低,细胞存活率降低($P<0.01$)。细胞对 L-DOC、L-DOC-FA 的摄取率大小为 L-DOC-FA(69.5%)>L-DOC(31.2%),差异有统计学意义($P<0.01$);肿瘤组织中 L-DOC-FA 含量比 L-DOC 含量高($P<0.01$);3 mg/kg L-DOC-FA 比相同质量浓度 L-DOC、DOC 抑瘤效果更明显,相对瘤体积更小($P<0.01$)。结论:L-DOC-FA 在体内外均对肝癌 Bel-7402 细胞有明显的主动靶向性,并表现出了很好的体内外肿瘤靶向抑制效果。

关键词 叶酸修饰纳米脂质体;多西紫杉醇;靶向性;肝癌 Bel-7402 细胞;肿瘤抑制;裸鼠

Study on Targeting of Folic Acid-modified Docetaxel Nano-liposome to Hepatocellular Carcinoma Bel-7402 Cells *in vivo* and *in vitro*

Ji Zhuwa, Qin Fuhua, Xia Xiaojing, Hu Ying (Biological and Pharmaceutical School, Zhejiang Medical College, Zhejiang Ningbo 315100, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the targeting of folic acid (FA)-modified docetaxel (DOC) nano-liposome (L-DOC-FA) to hepatocellular carcinoma Bel-7402 cells *in vivo* and *in vitro*. METHODS: The cell viability and survival rate of Bel-7402 cells was tested by CCK-8 kit after treated with 0, 1, 2, 5, 10 and 20 μg/ml DOC, L-DOC and L-DOC-FA for 24 h. And then, the fluorescein isothiocyanate was used to label L-DOC and L-DOC-FA nano-liposome, and the rate of L-DOC and L-DOC-FA absorbed by hepatocellular carcinoma Bel-7402 cells were detected. ¹²⁵I was used to label L-DOC and L-DOC-FA nano-liposome, and then the contents of them in the subcutaneous tumor tissues were detected. 28 Balb/c naked mice were selected and given liver cell suspension via back ih to induce tumor model. After modeling, naked mice were divided into blank control group (normal saline), DOC group (3 mg/kg), L-DOC (3 mg/kg, by DOC) and L-DOC-FA (3 mg/kg, by DOC). They were given relevant medicine intravenously once a day for consecutive 30 d. The relative tumor volume in naked mice was detected. RESULTS: DOC, L-DOC and L-DOC-FA all inhibited the cell viability of Bel-7402 cells, the survival rate of cells decreased in concentration-dependant manner; compared with DOC and L-DOC, the cell viability decreased after treated with L-DOC-FA, the survival rate of cells decreased ($P<0.01$). The rate of L-DOC and L-DOC-FA absorbed by Bel-7402 cells in descending order as L-DOC-FA (69.5%)>L-DOC (31.2%), with statistical significance ($P<0.01$). The content of L-DOC-FA in tumor was significantly more than that of L-DOC ($P<0.01$). In addition, 3 mg/kg L-DOC-FA showed better inhibitory effect than 3 mg/kg L-DOC and DOC on tumor, and the relative tumor volume was smaller ($P<0.01$). CONCLUSIONS: L-DOC-FA has obvious targeting to Bel-7402 cells *in vivo* and *in vitro*, and shows good inhibitory effect on tumor *in vivo* and *in vitro*.

KEYWORDS Folic acid-modified nano-liposome; Docetaxel; Targeting; Liver cancer Bel-7402 cells; Tumor inhibition; Naked mice

Bras Parasitol Vet, 2012, 21(3):243.

[11] 朱雨晴,石森林,吴瑾瑾,等.猕猴桃根多糖多相脂质体口服液对 CCl₄所致实验性急性肝损伤的药效作用[J].中华中医药学刊,2013,31(12):2665.

[12] 陈宝芝,李生,吴金滢,等.北五味子粗多糖对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制[J].吉林大学学

报:医学版,2014,40(1):92.

[13] Cigremis Y, Turel H, Adiguzel K, et al. The effects of acute acetaminophen toxicity on hepatic mRNA expression of SOD, CAT, GSH-Px, and levels of peroxynitrite, nitric oxide, reduced glutathione, and malondialdehyde in rabbit[J]. Mol Cell Biochem, 2009, 323(1/2):31.

[14] Pirincioğlu AG, Gokalp D, Pirincioğlu M, et al. Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia[J]. Clin Biochem, 2010, 43(15):1220.

报:医学版,2014,40(1):92.

[13] Cigremis Y, Turel H, Adiguzel K, et al. The effects of acute acetaminophen toxicity on hepatic mRNA expression of SOD, CAT, GSH-Px, and levels of peroxynitrite, nitric oxide, reduced glutathione, and malondialdehyde in rabbit[J]. Mol Cell Biochem, 2009, 323(1/2):31.

[14] Pirincioğlu AG, Gokalp D, Pirincioğlu M, et al. Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia[J]. Clin Biochem, 2010, 43(15):1220.

报:医学版,2014,40(1):92.

[13] Cigremis Y, Turel H, Adiguzel K, et al. The effects of acute acetaminophen toxicity on hepatic mRNA expression of SOD, CAT, GSH-Px, and levels of peroxynitrite, nitric oxide, reduced glutathione, and malondialdehyde in rabbit[J]. Mol Cell Biochem, 2009, 323(1/2):31.

[14] Pirincioğlu AG, Gokalp D, Pirincioğlu M, et al. Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia[J]. Clin Biochem, 2010, 43(15):1220.