

注射用姜黄素温敏凝胶体内外抗肿瘤实验研究

高萌^{1*}, 蒋妮², 徐红³, 张成鸿³, 关欣¹, 李磊¹, 李镇¹, 田燕^{1#} (1.大连医科大学药学院, 辽宁大连 116044; 2.大连儿童医院药剂科, 辽宁大连 116001; 3.大连医科大学基础医学院, 辽宁大连 116044)

中图分类号 R284.62; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)07-0605-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.07.10

摘要 目的: 研究注射用姜黄素温敏凝胶体外对小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株(HCA-F)增殖的抑制作用和体内对移植瘤模型小鼠的保护作用。方法: 培养HCA-F细胞株, MTT法测定10、25、50、75、100 $\mu\text{g/ml}$ 注射用姜黄素温敏凝胶、氟尿嘧啶、姜黄素混悬液对HCA-F细胞增殖的抑制作用。抽取腹水型肝癌模型小鼠腹水接种于小鼠腋下以复制小鼠移植瘤模型。50只小鼠随机均分为模型(等容生理盐水)组、空白温敏凝胶(ETH, 0.05 ml/cm³)组、无水乙醇(0.05 ml/cm³)组、姜黄素混悬液(0.05 ml/cm³)组、注射用姜黄素温敏凝胶(0.05 ml/cm³)组, 瘤内注射给药, 每隔5 d 1次, 连续2次。测定小鼠瘤体增长体积、瘤质量、抑瘤率, HE染色检测肿瘤细胞凋亡情况。结果: 培养细胞48 h时, 25、50、75、100 $\mu\text{g/ml}$ 注射用姜黄素温敏凝胶对HCA-F细胞增殖有明显抑制作用($P < 0.05$); 培养细胞72 h时, 10、25、50、75、100 $\mu\text{g/ml}$ 注射用姜黄素温敏凝胶对HCA-F细胞增殖有明显抑制作用($P < 0.05$)。与模型组比较, 注射用姜黄素温敏凝胶组小鼠瘤体体积增长程度明显减小, 瘤质量明显减轻, 抑瘤率明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 注射用姜黄素温敏凝胶组小鼠肿瘤细胞凋亡情况明显改善。结论: 注射用姜黄素温敏凝胶在体外对HCA-F增殖具有一定的抑制作用, 且体内效果与无水乙醇相当, 但小鼠的顺应性较无水乙醇好。

关键词 注射用姜黄素温敏凝胶; 腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株; 小鼠肝癌移植瘤

Study on Anti-tumor *in vivo* and *in vitro* Experiments of Curcumin Thermosensitive hydrogels for Injection

GAO Meng¹, JIANG Ni², XU Hong¹, ZHANG Cheng-hong³, GUAN Xin¹, LI Lei¹, LI Zhen¹, TIAN Yan¹ (1. Pharmaceutical College, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 2. Dept. of Pharmacy, Dalian Children's Hospital, Liaoning Dalian 116001, China; 3. College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the inhibitory effects of Curcumin thermosensitive hydrogels for injection (CTH) on ascitic hepatocarcinoma cell strain with high metastasis potential in lymphatic system (HCA-F) and protective effects of it on solid tumors model mice. METHODS: HCA-F cell strain were cultured, and inhibitory effects of 10, 25, 50, 75 and 100 $\mu\text{g/ml}$ CTH on the proliferation of HCA-F cell were determined by MTT. Mice solid tumors model was induced by vaccinated with ascites of ascitic hepatocarcinoma model mice into axillary fossa. 50 Kunming mice were divided into model group (constant volume of normal saline), blank thermosensitive gel group (ETH 0.05 ml/cm³), absolute ethyl alcohol group (absolute ethyl alcohol 0.05 ml/cm³), curcumin group (0.05 ml/cm³) and CTH group (0.05 ml/m³). They were given relevant medicines intratumorally every 5 days for consecutive 2 times. The increase of tumor volume, tumor weight and inhibitory rate were determined, and the apoptosis of tumor cells was determined by HE staining. RESULTS: 25, 50, 75 and 100 $\mu\text{g/ml}$ CTH significantly inhibited the proliferation of HCA-F after cultured for 48 h. 10, 25, 50, 75 and 100 $\mu\text{g/ml}$ CTH significantly inhibited the proliferation of HCA-F after cultured for 72 h. Compared with model group, the growth rate of tumor volume as well as tumor weight were decreased significantly in CTH group, while inhibitory rate increased significantly; there was statistical significance ($P < 0.05$). The apoptosis of tumor cells in CTH groups was improved significantly. CONCLUSIONS: CTH could effectively inhibit the proliferation of HCA-F *in vitro*, which is similar to the effect of absolute ethyl alcohol *in vivo*. The mice is more adaptable to CTH than absolute ethyl alcohol.

KEYWORDS Curcumin thermosensitive hydrogels for injection; HCA-F; Hepatic cancer solid tumor of mice

肝癌实体瘤的综合疗法中, 经皮无水乙醇注射疗法(Per-cutaneous ethanol injection therapy, PEIT)是一种很重要的微创辅助治疗方法。它是直接向肝癌实体瘤内注射无水乙醇, 从而使蛋白质凝固变性, 以达到杀死肿瘤细胞的目的。临床数据表明^[1], PEIT对小肝癌有很好的治疗效果, 对于中晚期肝癌

也可减缓肿瘤生长, 可作为手术治疗的辅助方法。但是其也有较多副作用, 特别是无水乙醇注入实体瘤后会给病患带来很大的痛苦。为此, 大连医科大学药剂学教研室研制了注射用姜黄素温敏凝胶(Curcumin thermosensitive hydrogels for injection, CTH), 它以姜黄素为主药, 以泊洛沙姆407为主要基质, 在体外低温条件下为液体, 进入实体瘤后, 随着温度的升高发生相转变成为半固体凝胶。前期研究结果已经证明, CTH药物含量高, 稳定性好, 可有效避免药物外渗, 可延长药物在瘤内的作用时间^[2], 避免了短时间内重复给药带给患者的痛苦。但

* 助理实验师。研究方向: 天然药物新制剂、新技术。电话: 0411-86110420。E-mail: gaomeng123-ren@163.com

通信作者: 教授。研究方向: 天然药物新制剂、新技术。电话: 0411-86110420。E-mail: tianyan2004@126.com

是,CTH能否有效抑制小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株(HCA-F)的增殖,能否达到与无水乙醇相当的治疗效果一直是研究重点。本研究采用MTT法,用氟尿嘧啶作为阳性药物进行对比,考察CTH体外对HCA-F细胞增殖的抑制作用,同时复制小鼠HCA-F移植瘤模型,采用瘤内注射法平行比较CTH和无水乙醇对HCA-F移植瘤生长的抑制效果,为制备姜黄素新制剂提供理论依据,使其具有更大的开发和应用前景。

1 材料

1.1 仪器

MS105DU型电子天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司);PB-20标准型pH计(北京赛多利斯仪器系统有限公司);ZQP-86型振荡切片机(上海之信仪器有限公司);354型酶标仪(美国Thermo公司);CX31型数显生物显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 药品与试剂

姜黄素(陕西森弗生物技术有限公司,批号:20101213,质量分数:95%);CTH(批号:20120908,规格:2.0 mg/ml)、空白温敏凝胶(Empty thermosensitive hydrogels,ETH,不含姜黄素,批号:20120908)、姜黄素混悬液(Curcumin Suspensions,CS,溶剂:三蒸水,批号:20120912,规格:2.0 mg/ml)均由大连医科大学药理学教研室提供;氟尿嘧啶注射液(深圳三顺制药有限公司,批号:20100620,规格:4 mg/ml);MTT细胞增殖及细胞毒性测试盒(北京Sol Arbio公司);RPMI1640培养粉、DMEM培养粉(美国Gibco BRL公司);胎牛血清(美国HyClone公司);三蒸水由笔者自制。

1.3 动物与细胞株

清洁级健康成熟8周龄KM种小鼠50只,♀♂兼用,体质量25~28 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]。HCA-F细胞由大连医科大学形态学实验室提供,在pH7.2的RPMI-1640培养液中,于37℃、5%CO₂培养箱中培养。

2 方法

2.1 CTH对HCA-F细胞的抑制

2.1.1 HCA-F细胞传代^[3] 复苏HCA-F冻存细胞,计数活瘤细胞并稀释活瘤细胞密度为 3×10^7 ml⁻¹,取调整后的细胞悬液0.2 ml接种于小鼠腹腔,6 d后形成腹水。

2.1.2 分组^[4] 实验分为6大组,即空白对照(三蒸水)组、阴性对照(接种细胞后加入培养液)组、阳性对照(接种细胞后加入氟尿嘧啶注射液,氟尿嘧啶终质量浓度为10、25、50、75、100 μg/ml,即阳性对照①、②、③、④、⑤)组、CTH(接种细胞后加入CTH溶液,姜黄素终质量浓度分别为10、25、50、75、100 μg/ml,即CTH①、②、③、④、⑤)组、CS(接种细胞后加入CS,姜黄素终质量浓度分别为10、25、50、75、100 μg/ml,即CS①、②、③、④、⑤)组、ETH(接种细胞后加入ETH溶液)组。每组6个复孔。

2.1.3 MTT测定^[5] 用含10%胎牛血清的RPMI1640培养液配成单个细胞悬液,以每孔 1×10^5 个细胞接种于96孔板,每孔体积100 μl。将药物分别加入已接种细胞的96孔板,后将培养板移入CO₂孵箱中,在37℃、5%CO₂饱和湿度条件下,分别培养24、48、72 h。每孔加入计算量的MTT溶液10 μl,继续孵育4 h,终止培养,每孔加入100 μl二甲亚砜,震荡10 min,使结

晶充分溶解。以酶标仪在490 nm波长处测定光密度(OD),按下式计算HCA-F细胞生长抑制率:抑制率=[1-(OD_{实验})-OD_{空白}]/OD_{阴性-OD_{空白}]×100%。}

2.2 CTH对模型小鼠移植瘤的抑制作用

2.2.1 复制模型与分组、给药 抽取腹水肝癌模型小鼠腹水并调整细胞密度为 2×10^6 ml⁻¹,按0.01 ml/g接种于小鼠腋下,接种1周后形成移植瘤^[6],选取肿瘤长径为20~25 mm的小鼠为模型。按随机分组表随机分为5组,即模型(等容生理盐水)组、ETH(0.05 ml/cm³)组、无水乙醇(0.05 ml/cm³)组、CS(0.05 ml/cm³)组、CTH(0.05 ml/cm³)组。瘤内注射给药,每隔5天给1次药,共给药2次。

2.2.2 指标的测定^[5-7] 测量移植瘤体的长短径,根据体积=长径×(短径)²/2计算瘤体体积。测量给药前、后瘤体的长短径,计算瘤体体积,对比给药前、后的体积变化,求出增长的瘤体体积。疗程结束次日小鼠断颈处死,解剖剥离皮下瘤体,称瘤质量,按下式计算抑瘤率:抑瘤率(%)=(模型组平均瘤质量-给药组平均瘤质量)/模型组平均瘤质量×100%。

2.2.3 HE染色检测肿瘤细胞凋亡^[8] 取移植瘤用甲醛溶液固定,取材,常规石蜡包埋切片,HE染色,挑选3~5个视野观察5组移植瘤切片中肿瘤细胞的生长及凋亡情况。

2.3 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS17.0统计软件处理实验数据。多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。不同时间点测定同一数据采用重复测量方差分析法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 CTH对HCA-F细胞的抑制作用

与ETH组比较,培养48 h时CTH②、③、④、⑤组与CS④、⑤组对HCA-F细胞的抑制率明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);培养72 h时CTH①、②、③、④、⑤组与CS③、④、⑤组对HCA-F细胞的抑制率明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。培养24、48、72 h时阳性对照组半数抑制浓度(IC₅₀)分别为315.98、36.84、7.39 μg/ml,CTH组分别为252.15、22.76、4.2 μg/ml,CS组分别为373.92、83.76、23.5 μg/ml。结果表明,CTH对HCA-F细胞生长的抑制作用最强,效果最好。CTH对HCA-F细胞的抑制率见表1(空白对照组与阴性对照组对肿瘤细胞均无抑制,因此表中略去)。

3.2 CTH对模型小鼠移植瘤的抑制作用

与模型组比较,无水乙醇组与CTH组肿瘤体积增长程度减小,瘤质量减轻,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ETH组、无水乙醇组、CS组、CTH组抑瘤率分别为7.36%、57.17%、16.21%、54.87%。CTH对模型小鼠移植瘤的抑制作用见表2。

3.3 肿瘤组织切片

组织切片图见图1。图中活细胞被染为深色,死细胞不被染色。模型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;ETH组大部分肿瘤细胞形态结构与模型组相似;无水乙醇组大部分组织坏死,细胞破碎,结构不完整,活细胞数量极少;CS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;CTH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,细胞明显减少。结果表明,移植瘤内注射CTH后,可以有效抑制移植瘤的生

长,与无水乙醇相比,效果相当,但ETH和CS无此效果。

表1 CTH对HCA-F细胞的抑制率(%, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab 1 Inhibitory rate (IR) of the proliferation of CTH on HCA-F tumor cells(%, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	质量浓度, $\mu\text{g/ml}$	t, h		
		24	48	72
ETH组		8.90 ± 0.12	9.54 ± 0.22	12.31 ± 0.34
阳性对照①组	10	16.18 ± 0.33	30.57 ± 0.31	53.24 ± 0.22*
阳性对照②组	25	20.52 ± 0.24	42.69 ± 0.37	59.31 ± 0.17*
阳性对照③组	50	25.62 ± 0.15	55.53 ± 0.28*	63.55 ± 0.23*
阳性对照④组	75	30.33 ± 0.36	60.48 ± 0.33*	67.55 ± 0.34*
阳性对照⑤组	100	33.51 ± 0.24	66.18 ± 0.19*	71.60 ± 0.13*
CTH①组	10	19.37 ± 0.28	39.63 ± 0.17	61.87 ± 0.27*
CTH②组	25	23.82 ± 0.31	49.38 ± 0.28*	70.19 ± 0.43*
CTH③组	50	28.80 ± 0.44	57.05 ± 0.26*	77.82 ± 0.38*
CTH④组	75	34.03 ± 0.19	66.60 ± 0.32*	81.98 ± 0.51*
CTH⑤组	100	37.43 ± 0.26	80.50 ± 0.38*	84.92 ± 0.13*
CS①组	10	5.39 ± 0.38	26.37 ± 0.24	42.91 ± 0.34
CS②组	25	8.45 ± 0.25	33.48 ± 0.29	49.53 ± 0.25
CS③组	50	12.11 ± 0.39	41.83 ± 0.21	55.98 ± 0.42*
CS④组	75	17.33 ± 0.35	49.09 ± 0.17*	61.71 ± 0.57*
CS⑤组	100	23.04 ± 0.12	53.73 ± 0.16*	63.26 ± 0.11*

与ETH组比较: * $P < 0.05$

vs.ETH group: * $P < 0.05$

表2 CTH对模型小鼠移植瘤的抑制作用($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 2 Inhibitory of CTH on solid tumor in model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	肿瘤体积增长, cm^3	瘤质量, g	抑瘤率, %
模型组	2.53 ± 0.16	4.89 ± 0.18	
ETH组	1.43 ± 0.17	4.53 ± 0.27	7.36*
无水乙醇组	0.59 ± 0.06*	2.09 ± 0.23*	57.17*
CS组	1.86 ± 0.07	4.09 ± 0.16	16.21*
CTH组	0.71 ± 0.04*	2.21 ± 0.21*	54.87*

与模型组比较: * $P < 0.05$

vs.model group: * $P < 0.05$

4 讨论

有文献^[9]报道,泊洛沙姆407在细胞表达多重抗药相关蛋白1(MRP1)和多重抗药相关蛋白2(MRP2)中具有明显的化敏作用,通过作用于ATP,降低细胞内谷胱甘肽(GSH)水平,降低胞内MRP-ATP酶和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的活性起到抑制肿瘤细胞增殖的作用。本研究考察了ETH对HCA-F细胞的抑制作用,结果表明,ETH具有抑制肝癌肿瘤细胞增殖的作用。加入天然低毒抗癌药物姜黄素后^[10],可起到双重抑制肿瘤细胞增殖的作用,CTH作用48 h和72 h后,对HCA-F的抑制作用有统计学意义($P < 0.05$),并且抑制率高于阳性对照药物氟尿嘧啶。

在药效学实验中,笔者将CTH与临床常用的无水乙醇对比,考察两者对肝癌移植瘤的抑制作用,通过计算抑瘤率及组织切片染色,证实CTH和无水乙醇均可延缓肿瘤的生长,对肝癌移植瘤具有一定的治疗作用,且CTH可以达到与无水乙醇相当的药效。瘤内注射无水乙醇后,移植瘤可明显观察到发硬的变化,并且瘤体体积增长缓慢,甚至不再继续增长,在组织切片图中也观察到了大面积的坏死现象,这主要是由于无水乙醇可使蛋白质变性,造成瘤组织坏死。但是在治疗的同时也给小鼠带来了很大的痛苦,瘤内注射无水乙醇的小鼠精

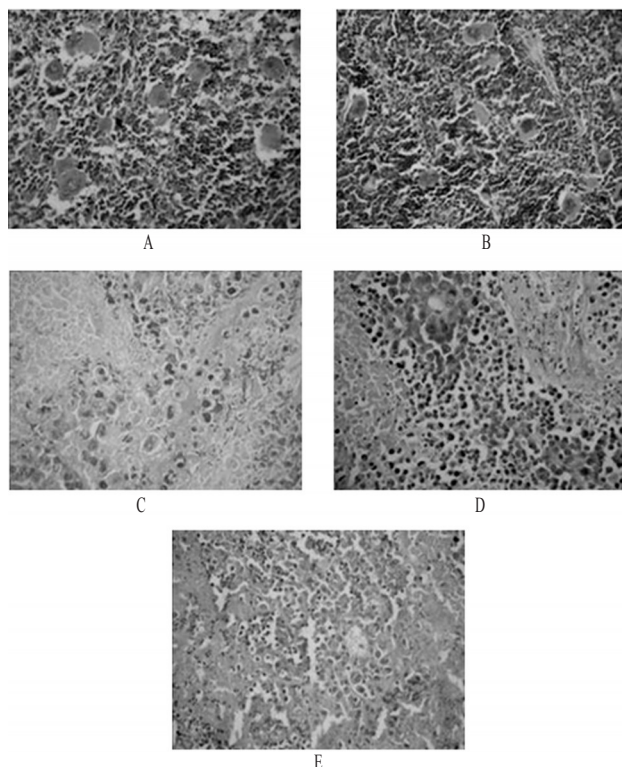


图1 组织切片图

A. 模型组; B. ETH组; C. 无水乙醇组; D. CS组; E. CTH组

Fig 1 Representative figures of tissue slice

A. model group; B. ETH group; C. absolute ethyl alcohol group; D. CS group; E. CTH group

神状态萎靡,进食量与活动量减少。CTH组细胞坏死面积<无水乙醇组,更多出现的是细胞破裂、细胞核丢失的现象,并且瘤内注射CTH的小鼠活动并无明显改变,精神状态良好,说明CTH在起改善作用的同时,减轻了给小鼠带来的痛苦。

参考文献

- [1] 林礼务,叶真,薛恩生,等.超声介入注射无水酒精治疗肝癌的量化研究[J].中国超声医学杂志,2000,16(7):514.
- [2] 高萌,徐红,鲍旭,等.RP-HPLC法测定姜黄素温敏凝胶中姜黄素的含量及体外释放度[J].中国药房,2012,23(11):979.
- [3] 张宏颖,刘春平,唐建武,等.姜黄素对小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株(HCa-F)生物学行为的影响[J].中草药,2005,36(11):1663.
- [4] 王培胜,刘宪丽,刘东颖,等.刺松藻多糖对肝癌HCa-F荷瘤小鼠的抑瘤作用[J].中国海洋药物杂志,2010,29(5):40.
- [5] 雷湘,李娟,陈科力.大黄素与姜黄素联用对肝癌细胞BEL7402生长抑制的协同作用[J].中国医院药学杂志,2009,29(12):971.
- [6] Kaiser N, Kimpfler A, Massing U. 5-Fluorouracil in vesicular phospholipid gels for anticancer treatment: Entrapment and release properties[J]. Int J Pharm, 2003, 256(122):123.
- [7] Yamane N, Makino M, Kaibara N. Sphase accumulation precedes apoptosis induced by preoperative treatment with

清开灵注射液溶血实验新方法与传统方法的比较研究

樊华*,康强,林鹏,王秀英(辽宁省食品药品检验所,沈阳 110023)

中图分类号 R943;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)07-0608-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.07.11

摘要 目的:寻找一种更客观反映清开灵注射液溶血情况的方法。方法:通过体外肉眼观察(传统方法)与体内溶血实验(新方法)比较,评价9个生产企业18批清开灵注射液溶血情况。结果:体外肉眼观察法下18批供试品结果均为阴性,体内溶血实验下18批供试品中15批为阴性结果,3批为可疑阳性结果。体内、外溶血实验方法的结果一致率达83.3%。结论:清开灵注射液体内溶血实验结果与体外肉眼观察法结果存在相关性,且体内法优于体外法。

关键词 清开灵注射液;溶血实验;比较研究

Comparative Study on New Method and Traditional Methods for Hemolysis Test of Qingkailing Injection

FAN Hua, KANG Qiang, LIN Peng, WANG Xiu-ying (Liaoning Institute for Food and Drug Control, Shenyang 110023, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To find out a more objective method to reflect hemolysis of Qingkailing injection. METHODS: Hemolysis situation of 18 batches of Qingkailing injection from 9 manufacturers were evaluated through the in vivo hemolysis method and in vitro naked eye observation experiment. RESULTS: Hemolysis test of 18 batches of test samples were negative by in vitro naked eye observation method. Hemolysis test of 15 batches of test samples were negative by in vivo hemolysis method, and 3 batches of test samples were suspected as positive. The consistent rate of in vivo and in vitro hemolysis test was 83.3%. CONCLUSIONS: There is an correlation between in vivo hemolysis test and results of in vitro naked eye observation method for Qingkailing injection, and in vivo method is better than that of in vitro method.

KEYWORDS Qingkailing injection; Hemolysis test; Comparative study

清开灵注射剂是由胆酸、珍珠母(粉)、猪去氧胆酸、栀子、水牛角(粉)、板蓝根、黄芩苷和金银花制备的中药复方制剂,不仅具有清热解毒、化痰通络、醒神开窍之功能,还具有抗细菌、抗真菌、抗病毒等作用。近几年,清开灵注射液临床应用中时有出现不良反应的报道^[1-3],主要有过敏性休克、过敏样反应、寒战、高热、胃肠道反应等。本研究从体内(新方法)、体外(传统方法)两方面进行了清开灵注射液溶血的研究及可能的溶血机制分析,以为该药品安全性质量评价提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

ES10K-1型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司);80-1型电动离心沉淀机(上海手术器械厂);BD115型恒温培养箱(德国Binder公司);UV-2550型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);ED型恒温水箱(德国Julabo公司)。

1.2 药品与试剂

清开灵注射液(A、B、C、D、E、F、G、H、I,9家公司各2批

次,规格:10 ml);N-乙酰苯肼(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20091013);微量游离血红蛋白(FHb)测试盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 动物

普通级日本大耳兔,♀♂兼用,体质量1.7~2.4 kg,由沈阳药科大学实验动物中心提供[实验动物使用合格证号:SCXK(辽)2009-0002];SPF级KM种小鼠,♀♂兼半,体质量18~22 g,由辽宁长生生物技术有限公司提供[实验动物使用合格证号:SCXK(辽)2010-0001]。

2 方法

2.1 体外肉眼观察法^[4]

2.1.1 红细胞混悬液的制备 取兔血数毫升,放入盛有玻璃珠的锥形瓶中,振摇10 min,除去纤维蛋白原,使成脱纤血,加约10倍量的生理盐水,混匀,以离心半径为8 cm、3 000 r/min离心10 min,除去上清液,沉淀的红血球再用生理盐水洗涤2~3次,至上清液不显红色为止,将所得红细胞用生理盐水配

=====

5-fluorouracil in human colorectal carcinoma cells[J]. *Cancer*, 1999, 85 (2): 307.
[8] Xiong S, Yu B, Wu Y, et al. Preparation therapeutic efficacy and intratumoral localization of targeted daunorubicin liposomes conjugating folate-PEG-CHEMS[J]. *Biomed*

Pharmacother, 2011, 65(1): 2.
[9] El-Kamel AH. In vitro and in vivo evaluation of Fluronic 127-based ocular delivery system for timolol maleate[J]. *Int J Pharm*, 2002, 241(1): 47.
[10] 胡静,李立.姜黄素药理作用研究现状[J]. *检验医学与临床*, 2007, 12(4): 186.

* 主管药师。研究方向:药品检验与毒理学。电话:024-25424739。E-mail:469345467@qq.com

(收稿日期:2013-07-03 修回日期:2013-10-14)