



## 姜黄素纳米胶囊亲水改性及 体外评价综合实验设计

刘焕迪<sup>1</sup>, 杜洁<sup>1\*</sup>, 张红蕾<sup>1</sup>, 贾新超<sup>2</sup>, 张路路<sup>3</sup>, 李玮<sup>1</sup>

(1. 河北大学 化学与材料科学学院, 保定 071002; 2. 晨光生物科技集团股份有限公司, 邯郸 056000;  
3. 河北牧群生物科技有限公司, 保定 071002)

**摘要:** 本实验合成并纯化得到两亲性聚羟基脂肪酸酯颗粒表面结合蛋白(PhaP), 将其修饰在前期制备的姜黄素纳米胶囊(Cur@PHA)表面, 通过表面改性有效提高了纳米胶囊的分散性能; 然后对表面改性姜黄素纳米胶囊(Cur-PhaP@PHA)的形貌、稳定性、药物释放性能及体外细胞毒性进行了表征和分析。结果表明: Cur-PhaP@PHA 表面形态和球形度好, 光稳定性性能优, 具有良好的药物缓释、控释作用, 表现出更优的药物吸收和生物利用度。该综合实验设计由产业需求出发, 帮助学生从产业应用、技术创新的角度分析解决问题, 有利于提高学生综合创新能力。

**关键词:** 姜黄素; 聚羟基脂肪酸酯; 两亲性纳米胶囊; 释药性能; 综合性实验

中图分类号: R945

文献标志码: A

DOI: 10.12179/1672-4550.20230030

## Comprehensive Experiment Design on Hydrophilic Modification and Evaluation in Vitro of Curcumin Nano-capsules

LIU Huandi<sup>1</sup>, DU Jie<sup>1\*</sup>, ZHANG Honglei<sup>1</sup>, JIA Xinchao<sup>2</sup>, ZHANG Lulu<sup>3</sup>, LI Wei<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry and Materials Science, Hebei University, Baoding 071002, China; 2. Chenguang Biotech Group Limited Co., Ltd., Handan 056000, China; 3. Muqun Biotech Co., Ltd., Baoding 071002, China)

**Abstract:** In this experiment, amphiphilic polyhydroxyalkanoate (PHA) particle surface binding protein (PhaP) was synthesized and purified. PhaP was effectively modified on the surface of curcumin nanosphere (Cur@PHA), and the dispersion performance of nanosphere was effectively improved by surface modification. The morphology, stability, drug release and in vitro cytotoxicity of the drug delivery system of Cur-PhaP@PHA were characterized and analyzed. The results showed that Cur-PhaP@PHA had good sphericity, excellent light stability, and sustained and controlled release. It also exhibited better drug absorption and bioavailability than free curcumin. This comprehensive experimental design is based on industrial demand, inspiring students to analyze and solve problems from the perspective of industrial application and technological innovation, which is conducive to improving students' comprehensive innovation ability.

**Key words:** curcumin; polyhydroxyalkanoate; amphiphilic nano-capsules; drug release; comprehensive experiment

姜黄素(Curcumin, Cur)是从姜科植物中提取的一种可食用色素, 安全无毒, 具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化等广泛的药理作用<sup>[1]</sup>; 近期研究还发现, 姜黄素能有效抑制新冠病毒的活性及繁殖能力<sup>[2-4]</sup>。但姜黄素难溶于水, 生物利用率低, 抗氧化性差<sup>[5-7]</sup>等缺点影响了其发展及临床上的应用。

为了克服姜黄素稳定性差、生物利用率低等缺点, 许多研究者利用纳米粒<sup>[8-9]</sup>、脂质体<sup>[10]</sup>、介孔材料<sup>[11]</sup>等药物载体材料运载姜黄素, 使其能够在生物体内更加稳定且高效地发挥其药效。但是, 递送载体本身存在生物相容性差、降解产物导致正常细胞炎性等不足, 并且没有解决水溶性差的

收稿日期: 2023-01-17; 修回日期: 2023-03-24

基金项目: 国家自然科学基金(3210120332); 河北省高等教育教学改革研究与实践项目(2021GJJG001); 河北大学产学研合作项目(横 2020050); 河北大学产学研合作项目(横 2020160)。

作者简介: 刘焕迪(1995-), 女, 硕士生, 主要从事纳米药物设计与合成研究。

\*通信作者: 杜洁(1979-), 女, 硕士, 实验师, 主要从事实验室教学与管理, 纳米药物递送系统研究。E-mail: dujie2008@126.com

问题,影响其在临床上的广泛应用。因此选择一种安全有效无毒的递送载体,构建易分散于水的递药系统,对姜黄素应用具有重要的临床意义。

聚羟基脂肪酸酯(polyhydroxyalkanoates, PHA)是一类由多种微生物胞内发酵合成的生物可降解高分子材料,有着良好的生物可降解性、生物相容性等性能。其在体内可被完全降解为二氧化碳、水和一些水溶性的分子团,不会对机体带来毒性,被广泛应用在生物医学领域<sup>[12]</sup>。其作为载体在疏水性药物的包封及缓释方面也具有独特的优势<sup>[13]</sup>,已有研究利用 PHA 作为载体分别对免疫抑制剂硫唑嘌呤(AZA)<sup>[14]</sup>、抗癌药物 5-氟尿嘧啶(5-FU)<sup>[15]</sup>进行递送,表现出了优异的生物相容性及药物缓释效果。本课题组前期采用乳化固化法,以 PHA 纳米颗粒作为药物递送载体包裹疏水性药物姜黄素,制备出姜黄素生物可降解的纳米胶囊(Cur@PHA),并对其包封率及载药量进行了研究<sup>[16]</sup>。

为了进一步改善 Cur@PHA 在水中的分散性及稳定性,我们利用天然 PHA 表面结合的颗粒表面结合蛋白(PhaP)的两亲特性,对姜黄素纳米胶囊进行表面改性。本实验首先设计并合成了 PHAP 蛋白并对其进行纯化,通过自组装的方式将其修饰在前期所制备的 Cur@PHA 表面。PhaP 疏水结构域吸附在 PHA 载体表面,亲水结构域暴露在水溶液中,将 Cur@PHA 表面由疏水性改性为亲水性,以期提高药物在水中的分散性。然后我们对所制备的表面改性姜黄素纳米胶囊(PHA@Cur-PhaP)形貌、血清稳定性、PH 稳定性、光稳定性、药物释放性能及细胞毒性进行了表征与评价,构建出易分散于水、生物利用度高、光稳定性性能优的绿色、无细胞毒性的姜黄素纳米胶囊系统。该工作对解决疏水性药物姜黄素的体内递送具有现实意义。

本实验来源于产业需求,以解决实际问题为出发点,涉及分子生物学、材料学、仪器分析等专业知识,以提高学生应用创新能力为目标开展实验教学,系统的实验思考与操作过程能够加深学生对本专业领域的体会与定位,强化学生的学习目标,增强学生对个人发展目标的认识,激发学生对化学生物学科的浓厚兴趣与热情。

## 1 实验药品与仪器

试剂耗材:咪唑、胰蛋白胨、酵母粉、十二

烷基硫酸钠、98% 噻唑蓝溴化四氮唑(MTT)、100X 青霉素/链霉素溶液、DMEM 培养液、DNA 连接酶快速连接试剂盒、考马斯亮蓝染液均购自上海生工;胎牛血清购自 Gibco;二甲基亚砜(DMSO)购自阿拉丁试剂;硫酸卡那霉素购自 BBI Life Sciences;琼脂糖购自 Biowest;HisTrap<sup>TM</sup> HP 和 HisTrap<sup>TM</sup> Desalting 预装柱均购自 GE 生命科学。

仪器:双向磁力加热搅拌器(金坛市荣华仪器);小型离心机(德国 Eppendorf);旋转蒸发仪(日本 Eyela);电子天平(美国 BECKMAN);超声波粉碎机(宁波新芝生物);高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific);冷冻干燥机(日本 Eyela);扫描电子显微镜(日本 Hitachi);电泳仪(北京六一生物);PCR 仪(德国 Eppendorf);蛋白纯化系统(美国 GE);大型离心机(美国 Thermo Fisher Scientific);凝胶成像分析仪(上海天能科技);立式压力蒸汽灭菌器(上海博讯医疗生物仪器);恒温培养振荡器(上海智城分析仪器);多功能酶标仪(美国 BioTek)和细胞培养箱(新加坡 ESCO)。

## 2 实验方法

### 2.1 亲水性颗粒蛋白 PhaP 的合成及纯化

由蜡样芽孢杆菌基因组(登录号:CP023245)中注释的 phap 基因设计引物 phap-F: CGGG-ATCCATGGAACTAAACCATACG, phap-R: CC-CTCGAGTTACTTGATGGAAGTAAATAG。使用上述引物,以 HBL-AI 全基因组为模板,对 phap 基因片段进行扩增。琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测,并对目标条带进行纯化。使用限制性内切核酸酶 BamHI 和 XhoI 消化纯化后的 PCR 产物及质粒 pET-28a,使二者具有相同的粘性末端,并利用 DNA 连接试剂盒对其进行连接。连接产物转化 E. coli DH 5 $\alpha$  感受态细胞,筛选阳性重组子。将重组质粒转化至 E. coli BL21(DE3) pLysS 中。挑取单菌落置于添加卡那霉素(终浓度 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的 LB 培养基中,37  $^{\circ}\text{C}$ , 200 rpm 振荡培养过夜。次日,对培养液进行离心,收集菌体沉淀进行高压破碎。上清液使用 HisTrap<sup>TM</sup> HP 预装柱(1 mL)进行梯度洗脱纯化。随后,采用 HisTrap<sup>TM</sup> Desalting 预装柱(5 mL),用 1 $\times$ PBS (pH=7.4)缓冲液进行洗脱,脱掉洗脱液中的盐。

纯化后的 PhaP 蛋白采用 12% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行验证分析, 凝胶在 80 V 下运行 0.5 h, 然后在 130 V 下运行 1 h, 电泳后凝胶用考马斯亮蓝染色并观察。收集的 PHAP 蛋白于 4 °C 保存, 备用。

## 2.2 Cur@PHA 与 PhaP 蛋白的自组装及形态表征

称取 1 mg Cur@PHA 颗粒, 加入到 2 mL PhaP 蛋白溶液(浓度为 1.2 mg/mL)中, 在 4 °C 环境下低速搅拌, 使其反应过夜。反应液 12000 rpm, 4 °C, 离心 5 min, 收集沉淀得到结合物 Cur@PHA-PhaP。然后采用 BCA 蛋白浓度检测方法测定吸附前后上清液中 PhaP 浓度, 通过差值法计算 PHA 表面的 PHAP 蛋白吸附量, 来评估蛋白吸附量情况。

分别取 10 μL Cur@PHA-PhaP 样品沉积在硅片表面上, 自然干燥, 15 kV 电压下, 放大 30000 倍, 进行扫描电镜(SEM)的观察。

## 2.3 Cur@PHA 改性前后分散性测试

准确称取 8 mg 的 Cur@PHA 颗粒于 50 mL 离心管中, 加入过滤好的磷酸盐缓冲液(pH=7.4) 1 mL 重悬, 使用 95% 的功率, 低温超声 20 min, 待颗粒全部重悬后转移至 1.5 mL 玻璃小瓶中, 立即拍照。

准确称取 8 mg 的 Cur@PHA 颗粒于 50 mL 离心管中, 加入 16 mL PhaP 蛋白溶液, 低温过夜结合。将结合后的溶液经 12000 rpm, 4 °C, 离心 5 min, 收集沉淀, 将沉淀用过滤好的 1 mL 磷酸盐缓冲液(pH=7.4)重悬并转移至 1.5 mL 玻璃小管中, 立即拍照。

将以上两种溶液静置 2.5 h 后, 拍照并观察二者分散稳定性。

## 2.4 Cur@PHA-PHAP 体内稳定性测试

1) 血清稳定性: 将 Cur@PHA-PhaP 溶液与等体积的 10% 非加热灭活的胎牛血清混合, 置于 37 °C 下孵育。分别在孵育的 1、2、4、8 和 12 h 取混合液进行 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。

2) pH 稳定性: 将 Cur@PHA-PhaP 分别浸入到 Tris-HCl 溶液(pH=4.5), PBS 溶液(pH=7.4)和磷酸氢二钠溶液(pH=9.0)中, 于 37 °C 进行孵育。分别在孵育 0.25、0.5、1、2、4、8 和 12 h 后, 取混合液进行 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。

## 2.5 Cur@PHA-PhaP 的释药性能测定

将 1 mL Cur@PHA-PhaP 溶液(终浓度 100

μmol/L)转移到透析袋(MWCO 10kDa)中, 并浸入醋酸-醋酸钠的缓冲液(pH=4.5)中, 在 37 °C 条件下, 以 100 rpm 的转速在振荡器中轻轻摇动。分别于间隔时间 0、2、4、6、8、12、24、48、72、96、120、144、168、192、216、240、264、288、312、336、360 和 384 h, 取出 500 μL 透析袋外的混合溶液, 进行 HPLC 检测。通过 Cur 标准曲线依次计算出对应浓度。通过如下公式计算 Cur 的释药率。

$$\text{释药率 } R(\%) = C_1 / C_0 \times 100\%$$

其中  $C_1$  是释放的 Cur 浓度,  $C_0$  是装载在 Cur@PHA-PHAP 中的 Cur 浓度。

释药时间作为横坐标, 释药率作为纵坐标, 分析 Cur@PHA-PhaP 的体外释放行为。

## 2.6 Cur@PHA-PhaP 光稳定性测试

称取 Cur@PHA-PhaP 和 Cur 各 15 mg 分别加入到 15 mL 甲醇中配制成溶液, 置于阳光下进行照射。在阳光照射的 0~10 天内, 每天分别取上述两种溶液 10 μL 混合到 3 mL 氯仿溶液中, 采用紫外分光光度仪在 425 nm 波长下检测 Cur 的含量, 观察 Cur 含量的变化。

## 2.7 Cur@PHA-PhaP 的细胞毒性测试

MGC803 细胞培养于含有 10%(v/v)胎牛血清和 100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基中。将指数生长期的 MGC803 细胞以  $1 \times 10^5$  个细胞/孔的浓度接种到 96 孔板中, 37 °C, 5%CO<sub>2</sub> 环境下孵育。培养 24 h 后, 取 10 μL PHA 缓冲溶液、Cur 溶液和 Cur@PHA-PhaP 溶液分别加入到上述 96 孔板中, 继续培养 24 h。然后向每个孔中加入 10 μL 的 MTT(5 mg/mL), 于 37 °C 下孵育 4 h。弃去上清液, 向各孔中加入 100 μL DMSO。记录 570 nm 波长下的吸光值。通过以下公式计算细胞生长抑制率。

细胞生长抑制率(%)=(OD 阴性对照-OD 处理)×100%/(OD 阴性对照-OD 背景)。

每次实验 5 组平行。

## 3 实验结果与讨论

### 3.1 亲水性蛋白 PhaP 的纯化

以 HBL-AI 全基因组为模板, 通过 PCR 成功克隆了 phap 基因(541 bp), 结果如图 1(a)所示。PCR 反应均为单一条带无非特异性扩增, 条带大小与预期相符。

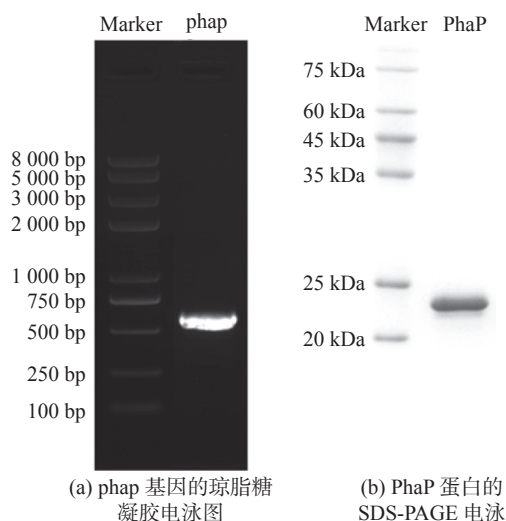


图1 电泳测试结果分析

目的基因片段经酶切、连接、转化后, 挑取阳性转化子测序验证, 测序结果显示: 成功构建重组质粒 pET-28a(+)& phap。将重组质粒转化至 *E. coli* BL21(DE3)plysS 中, 通过诱导表达, 得到可溶性目的蛋白。蛋白经亲和层析、脱盐、浓缩进行纯化。将纯化后的蛋白经 SDS-PAGE 电泳检测结果如图 1(b) 所示: 蛋白条带大小与 PhaP 分子量(23.9 kDa)大小相同且条带单一, 蛋白可用于后续实验。

### 3.2 Cur@PHA-PhaP 的组装及形貌表征

将 Cur@PHA 与纯化得到的 PhaP 蛋白溶液进行混合, 利用 PHAP 蛋白与 PHA 之间的疏水作用力, 使其自发吸附到 Cur@PHA 表面, 形成自组装体 Cur@PHA-PhaP。通过差值法计算得到的 1 mg Cur@PHA 吸附 PHAP 蛋白的量为 0.5 mg, 确定蛋白确实吸附在 Cur@PHA 上。

将自组装体 Cur@PHA-PhaP 进行 SEM 观察, 结果如图 2 所示。经过表面改性后, Cur@PHA-PhaP 粒径大小约为 200 nm, 微球表面粗糙, 基本呈球形。微球中间颜色深, 边缘颜色浅, 也表明 PhaP 蛋白修饰在胶囊外围。

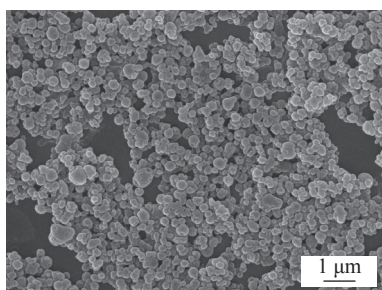


图2 Cur@PHA-PhaP 的 SEM 图

### 3.3 Cur@PHA-PhaP 分散性分析

为了比较纳米胶囊表面改性前后的分散性, 我们对其悬浊液进行了对比, 如图 3(a) 所示。改性前的纳米胶囊水溶液, 胶囊颗粒大部分悬浮于水溶液中, 少部分发生团聚并开始沉降。改性后的纳米胶囊颗粒能够均匀的悬浮于水溶液中, 其分散性更优。

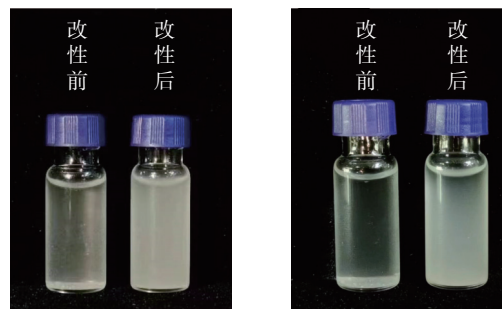


图3 分散性测试分析

同时, 我们对二者 2.5 h 静置后所呈现悬浊液的分散性进行了对比, 结果如图 3(b) 所示: 改性前的纳米胶囊经过 2.5 h 的静置大部分发生沉降, 而经过表面改性的纳米胶囊沉降现象不明显, 分散性及稳定性更优。

### 3.4 Cur@PHA-PhaP 体外稳定性分析

1) 血清稳定性。为了研究 Cur@PHA-PhaP 血清环境稳定性, 将其放置于中性的血清环境中进行孵育。在孵育的不同时间取样进行 SDS-PAGE 电泳分析, 结果显示 Cur@PHA-PhaP 随着在血清中孵育时间的延长, 在点样孔处可以清晰地看到条带未发生变化, 如图 4(a) 所示, 也未检测到因结构解体而生成的 PhaP 蛋白条带, 说明 Cur@PHA-PhaP 在血清中结构稳定性良好。

2) pH 稳定性。我们研究了 Cur@PHA-PhaP 在不同 pH 条件下的稳定性及变化。从图 4(b) 中可以看出: Cur@PHA-PhaP 在中性环境(pH 7.4)中可以保持稳定的组装体结构, 在 pH 4.5 和 pH 8.0 环境下, 胶块上可以检测到 PHAP 蛋白条带, 说明在酸性和碱性条件下 Cur@PHA-PhaP 体系不稳定, 结构发生解离。

上述结果表明 Cur@PHA-PhaP 载药体系有利于药物在输送过程中保持稳定, 而运输至酸性环境的肿瘤患处, 载药体系发生解离, 有利于胶囊到达细胞溶酶体后释放出包裹的姜黄素, 以此达到药物控释的效果。

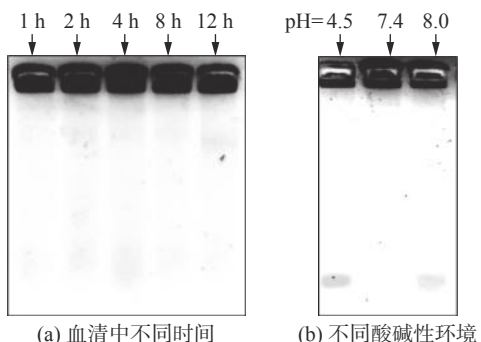


图 4 SDS-PAGE 电泳分析 Cur@PHA-PhaP 稳定性

### 3.5 Cur@PHA-PhaP 体外药物释放分析

我们在酸性环境下对 Cur@PHA-PhaP 的药物释放进行了研究。从图 5 可以看出，经过 24 h，Cur 仅释放了 35.46%。随着时间延长，Cur 被持续释放，在 384 h 时，Cur 达到较大释放率 (89.56%)。

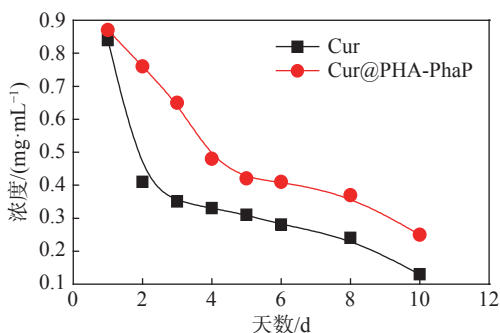


图 5 光稳定性分析

这是由于 Cur 被包裹在 PHA 微球内部，在中性环境 (pH 7.4) 中可以保持较稳定的组装体结构，药物无法释放。当环境发生改变，酸性环境中 PHA 被破坏，Cur 逐渐从疏水核心释放到外部溶液。由此说明 Cur@PHA-PhaP 结构可对姜黄素的药物缓释起到很好的效果。

### 3.6 Cur@PHA-PhaP 光稳定性分析

游离的姜黄素本身在光照下极易被降解，为了研究 Cur@PHA-PhaP 的光稳定性，将 Cur 和 Cur@PHA-PhaP 同时置于太阳光照下，每天定时取样，HPLC 分析姜黄素降解情况。如图 6 所示，在第二天时，游离姜黄素含量降低了近一半，到第十天游离姜黄素基本全部被降解。而制成纳米胶囊的 Cur@PHA-PhaP，因有 PHA 材料的包裹作为保护，降解速率明显变慢。这说明纳米胶囊结构能够有效帮助姜黄素抵御光解作用，更利于药物保存。

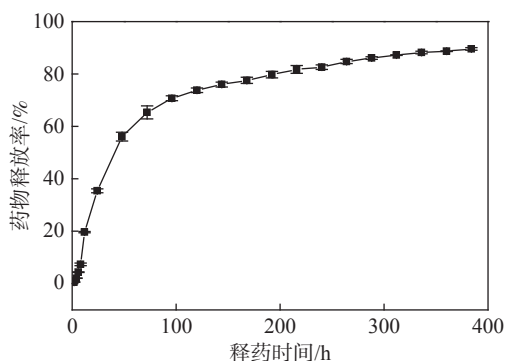


图 6 姜黄素的释放

### 3.7 Cur@PHA-PhaP 体外细胞毒性

很多研究表明 PHA 材料本身没有明显的细胞毒性，也没有先天的免疫原性。本文通过 MTT 实验验证了随着 PHA 浓度的增加，细胞存活率并未发生改变，证明 PHA 纳米颗粒本身对细胞无毒性，如图 7 所示。

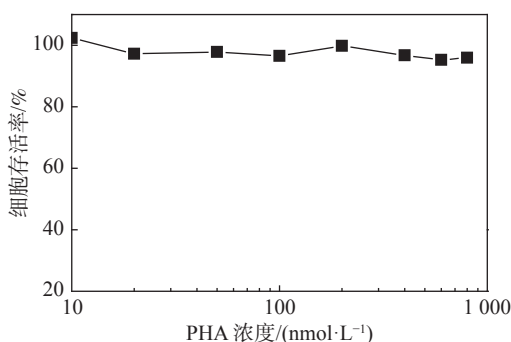


图 7 PHA 对细胞的毒性评价

同样采用 MTT 实验将 Cur 与 Cur@PHA-PhaP 对细胞的毒性情况进行了评价。结果如图 8 所示，Cur 的 IC50 值为 29.03±3.275 μmol/L，Cur@PHA-PhaP 的 IC50 值更低，仅为 2.575±3.509 μmol/L，说明包裹 Cur 的纳米胶囊对癌细胞表现出更强的毒性。上述结果也说明 Cur@PHA-PhaP 对姜黄素药物具有较好装载效果，显著增强了细胞对药物的摄取能力，从而产生更强的抗肿瘤作用。

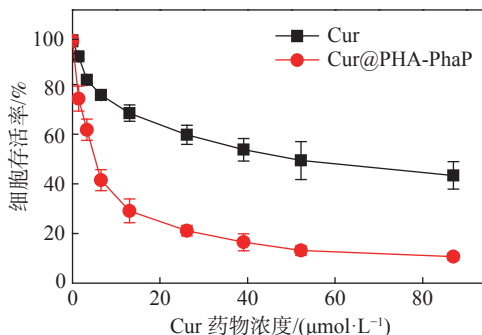


图 8 Cur 与 Cur@PHA-PhaP 对癌细胞的毒性评价

## 4 结束语

本实验中, 我们对前期所制备出的 Cur@PHA 进行了表面改性, 将设计合成的两亲性 PHAP 蛋白成功修饰于 Cur@PHA 表面, 获得颗粒均匀、分散性更优的 Cur@PHA-PhaP 纳米胶囊载药体系。

我们对优化后的 Cur@PHA-PhaP 血清稳定性、PH 稳定性及体外释放性能进行了评价: 该载药体系在血清中稳定性良好, PHA 对姜黄素具有一定的保护作用; 载药体系能够在酸性条件下发生解离, 姜黄素从疏水中心得以释放, 实现了纳米载药体系对药物的缓/控释作用, 从而可以更有效地发挥其药效。光稳定性实验表明: 该载药体系能提高姜黄素的稳定性, 有效保护姜黄素抵御光解作用。细胞毒性实验表明: PHA 纳米材料本身对细胞无毒性, 而装载姜黄素的纳米胶囊显著增强了细胞对姜黄素的摄取能力, 表现出优异的癌细胞毒性, 增强了药物的利用率。

本实验作为一项综合创新型实验, 将专业知识与产业需求相结合, 针对医药产业的实际问题引发学生思考, 激发学生对所解决问题及实验设计产生浓厚兴趣。学生依据问题设计相应的实验方案, 对实验内容进行合理规划, 在具体的实验过程中使科学问题得到解决, 培养了学生的实验探究能力。同时, 学生能够利用原有实验设计出有价值的新实验, 结合广泛的理论知识及实验技术手段更高层次地开展科学研究, 在科学性、合理性、可行性的基础上, 提高了学生的创新意识。此外, 通过解决实际问题, 强化了专业知识在社会发展中的具体应用及带来的具体成果, 增强了学生的学习主动性和社会责任感。

## 参考文献

- [1] 崔明花, 付二花, 林贞花, 等. 姜黄素抗肿瘤药理作用的研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(2): 186–188.
- [2] SURAVAJHALA R, PARASHAR A, CHOUDHIRI G, et al. Molecular docking and dynamics studies of curcumin with COVID-19 proteins[J]. *Network Modeling and Analysis in Health Informatics and Bioinformatics*, 2021, 10(1): 44–54.
- [3] THIMMULAPPA R K, MUDNAKUDU-NAGARAJU K K, SHIVAMALLU C, et al. Antiviral and immunomodulatory activity of curcumin: A case for prophylactic therapy for COVID-19[J]. *Heliyon*, 2021, 7(2): e06350.
- [4] BABAEI F, NASSIRI A M, HOSSEINZADEH H. Curcumin (a constituent of turmeric): New treatment option against COVID-19[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8: 5215–5227.
- [5] 刘颖慧. 姜黄素脂质体的制备及其体内外抗菌活性的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [6] LAKSHMI B A, REDDY A S, SANGUBOTLA R, et al. Ruthenium(II)-curcumin liposome nanoparticles: Synthesis, characterization, and effects against cervical cancer[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021: 111773.
- [7] 万宇欣. 新型姜黄素前药的制备及其抗骨肉瘤作用的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [8] 吴岩, 宫春爱, 王伟宏, 等. 多肽介导肿瘤靶向纳米粒载体的制备及其特性[J]. *山东医药*, 2021, 61(4): 1–4.
- [9] 罗雪玲, 黎姿, 徐雪梅. 载姜黄素金纳米复合微粒的制备及体外释放研究[J]. *化工技术与开发*, 2021, 50(9): 14–20.
- [10] WANG Y, DING R H, ZHANG Z, et al. Curcumin-loaded liposomes with the hepatic and lysosomal dualtargeted effects for therapy of hepatocellular carcinoma[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2021, 602: 120628.
- [11] 史巧, 黄星月, 吴凯, 等. 载姜黄素的介孔二氧化硅及中空介孔二氧化硅的制备及释药性能研究[J]. *中国药师*, 2021, 24(7): 209–214.
- [12] KOURILOVA X, PERNICOVA I, SEDLAR K, et al. Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by a thermophilic strain of *Schlegella thermodepolymerans* from xylose rich substrates[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 315: 123885.
- [13] PRIYANKA P, WING H L, CHING Y L, et al. Advances in polyhydroxyalkanoate nanocarriers for effective drug delivery: An overview and challenges[J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2022, 12(1): 175–179.
- [14] HU J, WANG M, XIAO X Y, et al. A novel long-acting azathioprine polyhydroxyalkanoate nanoparticle enhances treatment efficacy for systemic lupus erythematosus with reduced side effects[J]. *Nanoscale*, 2022, 12(19): 10799–10808.
- [15] SABYA S D, SANDEEP K S, PRP V, et al. Polyester nanomedicines targeting inflammatory signaling pathways for cancer therapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 154: 113654.
- [16] 傅双庆, 杜洁, 贾新超, 等. 姜黄素生物可降解纳米胶囊制备综合实验设计[J]. *实验技术与管理*, 2022, 39(6): 30–33.