

## • 药动学评价 •

## 高载药量甘草次酸纳米混悬剂的制备及其大鼠体内药动学研究

刘莹莹<sup>1,2</sup>, 肖瑶<sup>1,2</sup>, 苏文晶<sup>3</sup>, 国瑞琪<sup>1</sup>, 王向涛<sup>2\*</sup>

1. 黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 北京协和医学院药用植物研究所, 中草药物质基础与资源利用教育部实验室, 北京 100193

3. 哈尔滨商业大学, 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

**摘要:** 目的 制备 iv 用高载药量甘草次酸纳米混悬剂 (GA-NSPs), 并对其在 SD 大鼠体内的药动学行为进行研究。方法 将甘草次酸、聚乙二醇-聚己内酯 (PEG2000-PCL2000) 按质量比 5:1, 以微沉淀联合高压均质的方法制成 GA-NSPs。相同剂量 (50.00 mg/kg) 的 GA-NSPs 分别以 ig 和尾 iv 的方式给药, 于给药后 0.08、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、36、48 h 经大鼠眼球后静脉丛取血, 血浆经过处理后, HPLC 法测定各组 SD 大鼠给药后不同时间点血浆药物浓度。色谱柱为 Symmetry shield C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水 (梯度洗脱), 柱温 25 °C, 体积流量 1.00 mL/min, 紫外检测波长 254 nm, 进样量 50.00 μL。结果 GA-NSPs 的平均粒径为 298.1 nm, 载药量为 (77.40±0.93)%。大鼠血浆低、中、高 3 个浓度的方法回收率分别为 (116.6±3.8)%、(88.8±1.3)% 和 (83.0±1.5)%, 日内、日间精密度 RSD 均小于 5%。GA-NSPs 尾 iv 组的 C<sub>max</sub> 是 ig 组的 8.13 倍, GA-NSPs 尾 iv 组的 AUC 值是 ig 组的 1.28 倍。结论 制备的 GA-NSPs 稳定性好, 可同时满足 ig 和 iv 给药的要求。药动学研究结果提示, iv GA-NSPs 可能更多地向肝、脾等网状内皮系统分布, 利于对保肝和对肝脏疾病的治疗。

**关键词:** 甘草次酸; 纳米混悬剂; 药动学

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2016)01-0074-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.01.013

**Preparation of glycyrrhetic acid nanosuspensions with high drug payload and their pharmacokinetics in rats**LIU Ying-ying<sup>1,2</sup>, XIAO Yao<sup>1,2</sup>, SU Wen-jing<sup>3</sup>, GUO Rui-qi<sup>1</sup>, WANG Xiang-tao<sup>2\*</sup>

1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Peking Union Medical College, The Lab. of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Beijing 10019, China

3. Life Sciences and Environmental Sciences Center, Harbin university of commerce, Harbin 150076, China

**Abstract: Objective** To prepare glycyrrhetic acid nanosuspensions (GA-NSPs) with high drug payload and investigate their pharmacokinetics in SD rats. **Methods** The GA-NSPs were prepared by microprecipitation combined with high pressure homogenization method, using glycyrrhetic acid and PEG 2000-PCL 2000 (5:1, weight ratio) in formulation. GA-NSPs were ig and iv administered respectively at the same dose of 50.00 mg/kg. At 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, and 48 h after administration, the blood was collected from the eye venous plexus of the rats, pretreated to remove plasma protein and analyzed using HPLC. Symmetry shield C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used, and the mobile phase was composed of acetonitrile and 0.1% phosphoric acid (gradient elution at the flow rate of 1.00 mL/min). The analysis was performed at 25 °C and monitored at 254 nm (UV detector). The analyte (50.00 μL) was injected for HPLC assay. **Results** The average particle size of glycyrrhetic acid nanosuspensions was 298.1 nm and the drug loading of GA-NSPs was (77.40±0.93)%. The recovery rates of rat plasma with low-, mid-, and high-concentration were (116.6±3.8)%, (88.8±1.3)%, and (83.0±1.5)%, respectively, and the inter- and intra-day precisions

收稿日期: 2015-10-19

作者简介: 刘莹莹 (1990—), 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 硕士研究生, 专业方向为药物新剂型。Tel: 13261639741 E-mail: m15114578696@163.com

\*通信作者: 王向涛 (1973—), 男, 河南洛阳人, 研究员, 博士, 主要从事药物新剂型研究。Tel: 010-57833266 E-mail: xtaowang@163.com

of the method were good (RSD < 5%). The  $C_{\max}$  of GA-NSPs iv injection group was 8.13-fold as that of ig administration group, and the AUC of GA-NSPs iv injection group was 1.28 times as that of ig administration group. **Conclusion** GA-NSPs have good stability and could be ig administrated or intravenously injected for *in vivo* study or clinic use. The results of the pharmacokinetic studies indicate that GA-NSPs tend to go to reticuloendothelial system such as liver and spleen after iv injection, thus benefit the therapy of liver diseases.

**Key words:** glycyrrhetic acid; nanosuspensions; pharmacokinetic

甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA) 是甘草酸的水解产物, 也是甘草的主要活性成分之一<sup>[1]</sup>, 具有多种药理作用, 如抗炎、抗溃疡和肾上腺素皮质激素功能<sup>[2-4]</sup>。甘草次酸已用于治疗肝脏疾病以及风湿性关节炎、溃疡<sup>[5-6]</sup>, 近年来也发现其具有不错的抗肿瘤效果, 如乳腺癌、肝细胞癌、肺癌等<sup>[7-10]</sup>。甘草次酸在水中溶解度差<sup>[11-12]</sup>, 迄今为止关于甘草次酸的纳米给药系统, 如脂质体<sup>[13-14]</sup>、固体脂质纳米粒<sup>[15]</sup>、聚合物纳米粒<sup>[16]</sup>等, 虽在一定程度上能解决其给药问题, 但载药量相对均有限, 且体内研究较为缺乏。故本研究尝试将其制备成高载药量、适合 iv 的纳米混悬剂, 并以考察其在大鼠体内的药动学行为。

## 1 仪器和材料

Zetasizer nano ZS 型粒度仪 (英国 Malvern Instruments 公司); PURELAB Classic 综合纯水仪 (英国 ELGA 公司); LGJ-10B 冷冻干燥机 (北京四环科学仪器厂有限公司); SHA-B 水浴恒温振荡器 (金坛国旺实验仪器厂); KQ3200DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); RJ-TGL-16C 型高速台式离心机 (无锡市瑞江分析仪器有限公司); Meppler Toledo AL204 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); S-4800 型扫描电子显微镜 (日本 Hitachi 公司); JEM-1400 透射电子显微镜 (日本株式会社); U3000 高效液相色谱仪 (戴安有限公司); LGL-10B 冷冻干燥机 (军事医学科学院实验仪器厂研制, 北京四环科学仪器厂有限公司制造)。

甘草次酸对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110723-200612); 甘草次酸纳米混悬剂 (自制); 乙腈为色谱纯, 其余均为分析纯。

健康 SD 大鼠, 雄性, 180~200 g, SPF 级, 北京维通利华实验动物有限公司, 动物许可证号: SCXK(京)201-0001, 合格证编号 11400700006035。

## 2 方法

### 2.1 甘草次酸纳米混悬剂 (GA-NSPs) 的制备和载药量测定

将甘草次酸和聚乙二醇-聚己内酯 (PEG2000-

PCL2000) (5:1) 溶于 3.00 mL 丙酮中, 在超声 (25 °C, 250 W) 条件下, 匀速缓慢注入到 15.00 mL 去离子水中, 45 °C 减压旋转蒸发除去丙酮后, 高压均质 (45 °C, 200 000 kPa) 18 次, 即得 GA-NSPs。以 Zetasizer nano ZS 型粒度仪测定纳米混悬剂的粒径、粒度分布和表面电位。

精密吸取 GA-NSPs 100.00  $\mu$ L 于 Eppendorf 管中, 乙腈破坏, 进 HPLC 检测, 计算甘草次酸含量。另取 GA-NSPs 3.00 mL 于 -80 °C 放置 3 h 后, 放入冷冻干燥机中, 待完全干燥后称重, 平行 3 份, 并按如下公式计算载药量。

载药量 = 纳米混悬剂中的药物量 / 纳米混悬剂的总质量

### 2.2 GA-NSPs 的透射电镜观察

将 GA-NSPs 用去离子水稀释到甘草次酸质量浓度为 0.10 mg/mL, 取 6.00  $\mu$ L 滴到 300 目的铜网上, 静置 5 min 后滤纸吸干, 空气中放置 10 min 后, 滴加 6.00  $\mu$ L 醋酸铀染色 90 s, 滤纸吸干, 室温晾 3 min, 透射电镜下观察纳米粒子的形态和大小。

### 2.3 GA-NSPs 不同介质稳定性考察

分别配制 1.8% 的氯化钠溶液、10% 葡萄糖溶液, 逐滴滴加到 1.00 mL GA-NSPs 中, 最终将纳米混悬剂调到外水相为生理盐水和 5% 葡萄糖等渗溶液。将 1.00 mL PH 7.4 的 PBS 溶液滴加到 1.00 mL 纳米混悬剂中混合均匀, 分别配置人工胃液、人工肠液, 10 000 r/min 离心 10 min 后取上清 4.00 mL, 逐滴滴加到 1.00 mL GA-NSPs 中混匀, 37.0 °C 恒温孵育 5 h, 于 0、3、5 h 以 Zetasizer nano ZS 型粒度仪测定粒径并观察粒径变化情况。

### 2.4 GA-NSPs 冻干复溶稳定性考察

精取吸取 GA-NSPs 1.00 mL 于西林瓶中, 另取 GA-NSPs 1.00 mL 分别加入 4% 麦芽糖和 1% 麦芽糖, -80 °C 预冻 1 h 后, 迅速放入冷冻干燥机中, 冻干 12 h, 取出后分别加入一定体积去离子水、0.9% 氯化钠溶液、5% 葡萄糖溶液, 超声 30 s 分散, 用动态光散射测定其粒径, 并监测其在 4 °C 放置过程中的粒径变化。

### 2.5 甘草次酸的体外释放

将 GA-NSPs 稀释到 1.00 mg/mL, 取 1.00 mL 加入 1% 胎牛血清后置于截留相对分子质量为 8 000~14 000 的透析袋内, 两端扎紧, 以 50.00 mL 的 PBS 溶液 (含 1% 胎牛血清) 作为释放外液, 100 r/min、37 °C 恒温水浴条件下震荡, 不同时间点取 1.00 mL 释放外液冻干, 并补加等体积、37 °C 的释放外液, 每隔 24 h 更换 1 次外液, 平行 3 份。另取 1.00 mg GA 药物原粉用 1.00 mL 含 1% 胎牛血清的水溶液混悬后得甘草次酸原药溶液 (GA-CS), 同法处理, 平行 3 份。

将不同时间点取出的释放外液冷冻干燥 24 h 后, 加入 1.00 mL 甲醇沉淀蛋白, 10 000 r/min 离心 10 min 取上清, 用高效液相外标法测定含量, 计算累积释放量。

## 2.6 甘草次酸体内含量测定的方法学考察

**2.6.1 色谱条件** 色谱柱为 Symmetry shield C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 25°C, 流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸水 (B), 梯度洗脱 (0~0.05 min, 10%B; 0.1~1.3 min, 100%B; 1.35~10 min, 10%B), 体积流量 1.00 mL/min, 进样量 50.00 μL。

**2.6.2 甘草次酸对照溶液的配制** 用外标法对甘草次酸的含量进行测定。精密称取 10.00 mg 甘草次酸对照品, 置于 10.00 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至 10.00 mL, 得 1.00 mg/mL 的甘草次酸对照品贮备液。精密量取该贮备液, 甲醇分别稀释得浓度 0.10、0.01 mg/mL 的系列甘草次酸对照品溶液。

**2.6.3 血浆样品处理** 取含药血浆 200.00 μL 加 1.00 mL 乙腈沉淀蛋白, 涡旋 1 min 后室温放置 10 min, 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清加入至含 50.00 mg 氯化钠的 Eppendorf 管中, 涡旋 1 min 混匀后室温放置 10 min 使其部分溶解, 8 000 r/min 离心 5 min, 取出全部上清于 Eppendorf 管中, 取 50.00 μL 进 HPLC 检测分析。

**2.6.4 标准曲线的制备** 分别配制质量浓度为 0.005、0.01、0.05、0.10、0.50、1.00 mg/mL 的系列标准溶液, 各取 10.0 μL 分别加入空白血浆 200 μL, 混匀, 按照“2.6.3”项下血浆样品处理方法处理, 即得质量浓度分别为 0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00 μg/mL 的血浆系列标准溶液, 取 50.00 μL 进 HPLC 检测, 以峰面积对浓度进行线性回归。

**2.6.5 精密度实验** 用空白大鼠血浆配制低、中、高 3 种浓度 (0.10、1.00、10.00 μg/mL) 的甘草次酸溶液, 按“2.6.3”项下血浆样品处理方法处理后进行

色谱分析, 记录峰面积, 根据标准曲线方程计算浓度。1 天内测定 5 次计算日内精密度, 每天测定 1 次连续测 5 d, 计算日间精密度。

**2.6.6 回收率实验** 分别取 9 份大鼠空白血浆, 每 3 份为 1 个剂量组, 分别配制低、中、高 (0.10、1.00、10.00 μg/mL) 3 个质量浓度的含药血浆, 按“2.6.3”项下血浆样品处理方法处理, 记录色谱峰面积 A<sub>1</sub>, 同时按相同处理方法测定相同浓度的甘草次酸纳米混悬剂 (自制), 记录色谱峰面积 A<sub>2</sub>, 按 A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub> 计算回收率。

## 2.7 GA-NSPs 药动学研究

健康雄性 SD 大鼠 20 只, 180~200 g, 随机分成两组。给药前禁食 12 h, 自由饮水。分别以 50.00 mg/kg 的剂量 ig 和尾 iv 给予 GA-NSPs, 于给药前和给药后 0.08、0.25、0.50、1、2、4、8、12、24、36、48 h 经大鼠眼球后静脉丛采血 0.50 mL, 置于含肝素钠的 Eppendorf 管中, 8 000 r/min 离心 5 min, 取血浆 200.00 μL, 按照“2.6.3”项下血浆样品处理方法和“2.6.1”项下色谱条件处理, 进样 50.00 μL, 记录峰面积, 计算各时间点的血药浓度。Phoenix WinNonlin (version 6.1) 药动学软件处理, 计算药动学参数。

## 3 结果

### 3.1 GA-NSPs 的性质

将甘草次酸、PEG2000-PCL2000 按质量比 5:1 成功制备了甘草次酸纳米混悬剂。其平均粒径为 298.1 nm, PDI 值为 0.155, 电位 -12 mV, 粒径分布图见图 1。在透射电镜下观察 GA-NSPs 接近球形, 大小均一, 分布均匀, 分散度较好 (图 2)。制备 3 份 GA-NSPs, 测定其载药量分别为 77.08%、76.68% 和 78.45%, 平均载药量为 77.40%。

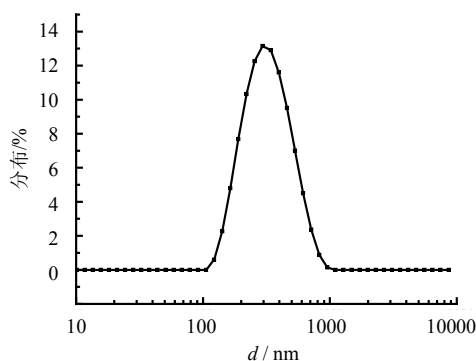


图 1 GA-NSPs 的粒径分布图

Fig.1 Particle size distribution of GA-NSPs

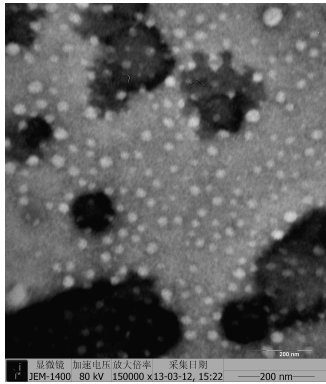


图2 GA-NSPs TEM 照片

Fig.2 Transmission electron microscope images of GA-NSPs

GA-NSPs 在生理盐水、pH7.4 的 PBS、5%葡萄糖溶液和人工胃肠液中孵育 5 h 粒径变化均在 20 nm 以内，仍为具有乳光的澄清液体，表现出较好的稳定性，提示制备的 GA-NSPs 可以满足口服和静脉给药的稳定性要求。GA-NSPs 直接冻干后加水不能复溶，而加入 4%的麦芽糖做保护剂再冻干，加入去离子水、0.9%氯化钠溶液、5%葡萄糖溶液 3 种分散介质均能使其完全复溶（即完全分散），复溶后粒径几乎不变。4 °C 条件下放置 7 d 后粒径无显著变化。

### 3.2 GA-NSPs 体外释放

如图 3 所示，在有 1%胎牛血清存在的条件下，GA-NSPs 在 6 h 时体外累积释放率达到 32.11%，至 96 h 几乎释放完全，达到 97.02%。而 GA-CS 则释放缓慢，24 h 的累积释放只有 26.91%。相较原药的物理混悬液，纳米混悬剂促进了药物的溶出和释放，这是因为随着粒径的减小，纳米混悬剂的比表面快速增大，药物的表面溶解度、溶出速度和扩散速度都相应增加。

由于甘草次酸的溶解性很差，在纯水或 PBS 中的释放非常缓慢，加上甘草次酸检测限高，释放外液中药物浓度过低不易准确测量，故在释放介质中加入 1%胎牛血清来促进药物的释放。甘草次酸纳米混悬剂在 1%的胎牛血清存在下的缓释行为，提示其静脉注射入血后在血液循环中释放慢，利于被靶向到肝脏而发挥保肝作用。

### 3.3 甘草次酸含量测定方法学建立

空白血浆和含甘草次酸的血浆样品 HPLC 色谱

图见图 4，可知，在项“2.6.1”色谱条件下，血浆中内源性物质不干扰甘草次酸的检测。甘草次酸保留时间为 6.7min，峰形良好。

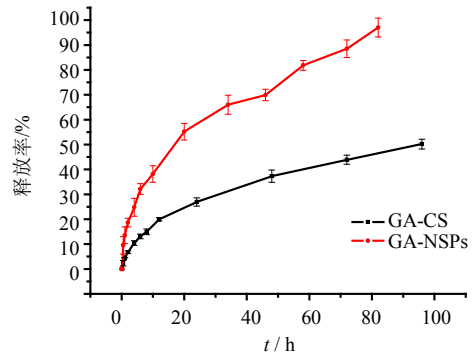


图3 GA-NSPs 体外释放

Fig.3 In vitro release profiles of GA-NSPs

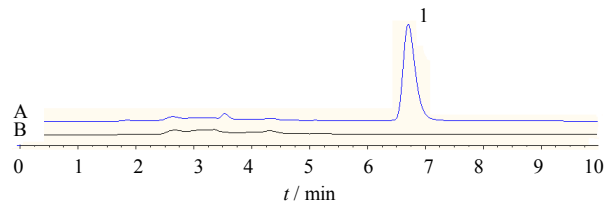


图4 空白血浆 (A) 及大鼠含药血浆 (B) 中甘草次酸的 HPLC 图谱

Fig.4 HPLC of blank plasma (A) and GA in plasma sample of rat (B)

采用外标法对甘草次酸进行含量测定。甘草次酸在大鼠血浆中标准曲线回归方程为  $y = 0.0005x + 0.0691$  ( $r = 0.9998$ )，线性范围  $0.05 \sim 10 \mu\text{g/mL}$ ，定量限为  $0.05 \mu\text{g/mL}$ 。低、中、高 3 个浓度的提取回收率 ( $n = 5$ ) 分别为  $(116.6 \pm 3.8)\%$ 、 $(88.8 \pm 1.3)\%$  和  $(83.0 \pm 1.5)\%$ ，相应的 RSD 值分别为 3.2%、2.5%和 1.8%。日内、日间精密度 RSD 均小于 5%，表明该检测方法的准确度、精密度较高。

### 3.4 甘草次酸纳米混悬剂药动力学研究

GA-NSPs ig 组与尾 iv 组在大鼠体内的平均血药浓度-时间曲线见图 5，大鼠体内主要药动力学参数见表 1。可以看出 GA-NSPs 尾 iv 组血药浓度达峰时间要比 ig 组快，GA-NSPs 尾 iv 组的  $C_{\text{max}}$  是 ig 组的 8.13 倍，GA-NSPs 尾 iv 组的 AUC 值是 ig 组的 1.28 倍。

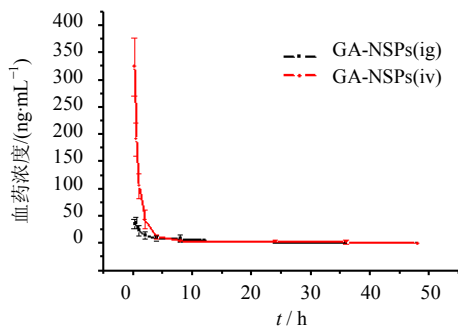


图5 GA-NSPs在大鼠体内的药-时曲线 ( $n=8$ )

Fig.5 Concentration-time curves of GA-NSPs in rats ( $n=8$ )

表1 GA-NSPs ig和尾iv给药后的药动学参数

Table 1 Pharmacokinetic parameters after iv and ig administration with GA-NSPs

参数	单位	iv GA-NSPs	ig GA-NSPs
$t_{1/2}$	h	8.65	7.55
$T_{max}$	h	0.08	0.38
$C_{max}$	ng·mL <sup>-1</sup>	324307.70	39868.40
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL <sup>-1</sup>	267473.60	210629.00
$AUC_{0-t}$	h·ng·mL <sup>-1</sup>	263718.09	204820.08

#### 4 讨论

本研究预试验中曾经尝试过用 PLA-PEG、PEG-PLGA、聚山梨酯-80、芩泽 78、泊洛沙姆等作稳定剂进行 GA-NSPs 的制备,但要么无法制备,要么粒径较大,或者只能在药载比较小时才能制备成功。而以 PCL-PEG 为稳定剂时,制备的纳米混悬剂载药量高(可达到 5:1),同时粒径也小,故研究就一直用 PCL2000-PEG2000 为稳定剂制备。

尝试了不同流动相,如磷酸水、乙酸水<sup>[17-18]</sup>,最后以乙腈-0.1%磷酸水梯度洗脱,灵敏度高、峰形良好。血浆样品处理方法分别尝试过甲醇沉淀法、乙腈沉淀法、醋酸乙酯萃取法除蛋白,其中以乙腈沉淀法内源性物质干扰少同时回收率也高。该方法在乙腈沉淀后分离上清液,再以氯化钠盐析进一步除去水溶性杂质。加入的 50.00 mg 氯化钠稍有过量,具体操作时只要混匀即可,氯化钠是否完全溶解不影响血浆处理结果。

由体内药动学初步研究结果可知,GA-NSPs 口服吸收比较快,约 30 min 即可达到血药浓度峰值。这可能由于 GA-NSPs 粒径小、比表面积大导致药物溶出较快的原因。同时由于肝肠循环的存在,口服吸收的 GA-NSPs 在约 8 h 时出现了不太明显的第

二个血药浓度峰值。对 GA-NSPs 来说,本文建立的血样处理方法以及 HPLC 测定方法检测到的是血浆中游离的甘草次酸和纳米粒中尚未释放的甘草次酸的加和贡献,故  $C_{max}$  高出口服给药的  $C_{max}$  很多倍。从其药时曲线推测,GA-NSPs 入血后先是快速地向组织器官分布(分布相),然后再缓慢消除(消除相),这一点和口服给药明显不同。

一个奇怪的现象是,同为 GA-NSPs, iv 给药的 AUC 仅仅为 ig 给药的 1.28 倍。部分原因诚然是因为甘草次酸制备成纳米混悬剂后,吸收加快,生物利用度有所提高,但更重要的原因和纳米粒能改变药物的体内分布有关。即入血的 GA-NSPs 以更多的比例和更快的速度离开血液,进入到了特定的组织器官。

GA-NSPs 平均粒径 300 nm,这个尺寸的纳米粒入血后通常会被快速分布到肝、脾等网状内皮系统(RES)丰富的组织器官,尤其是肝脏,类似的情况在文献中也有报道<sup>[19]</sup>。而 ig 给药的 GA-NSPs 则不具备这一特点。所以,尽管 iv 给药 GA-NSPs 的 AUC 较 ig 给药提高有限,但从对肝脏疾病的治疗目的来看,iv 给药 GA-NSPs 可能会比 ig 给药有效得多。关于 GA-NSPs 的组织分布、肝靶向性及对病毒性肝炎的疗效研究正在进行之中。

在已有的关于甘草次酸的纳米给药系统中,如脂质体、固体脂质纳米粒、聚合物纳米粒中,载药量均较有限,药物浓度也很难提高,如 iv 需要较大体积,应用受到一定的限制。纳米混悬剂是几乎纯药物的纳米粒子,可以达到很高的载药量和药物浓度,尤其是对于剂量较大的中药和天然药物的纳米给药,具有很强的优势。本研究采用的 PEG-PCL 具有优异的安全性和生物相容性<sup>[20]</sup>,价廉易得,同时超声注入工艺简便,利于工业化生产和临床应用。

#### 参考文献

- [1] Chen J, Jiang H, Wu Y. A novel glycyrrhetic acid-modified oxaliplatin liposome for liver-targeting and *in vitro/vivo* evaluation [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 2265-2275.
- [2] 杨锦南,朱明,曹中亮.甘草次酸及其衍生物药理作用研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 1997, 13(2): 110-114.
- [3] Lin D, Sun W, Wang Z, Chen L G. The effect of glycyrrhetic acid on pharmacokinetics of cortisone and its metabolite cortisol in rats [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012(2012): 856324.

- [4] Hou Y C, Hsiu S L, Ching H. Profound difference of metabolic pharmacokinetics between pure glycyrrhizin and glycyrrhizin in licorice decoction [J]. *Life Sci*, 2005, 76(10): 1167-1176.
- [5] Lu Y, Jing J, Ren W. Biliary excretion of glycyrrhetic acid: glucuronide-conjugate determination following a pharmacokinetic study of rat bile [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(12): 1887-1889.
- [6] Tian Q, Wang X, Wang W. Understanding the role of the C3-hydroxyl group in glycyrrhetic acid on liver targeting [J]. *J Control Release*, 2011, 152(Suppl 1): e237-239.
- [7] Wang X F, Zhou Q M, Lu Y Y. Glycyrrhetic acid potently suppresses breast cancer invasion and metastasis by impairing the p38 MAPK-AP1 signaling axis [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(5): 577-587.
- [8] 金敏, 吴红金. 甘草次酸药理作用的研究进展[J]. *医学综述*, 2009, 15(11): 1712.
- [9] Zhu J, Chen M, Chen N. Glycyrrhetic acid induces G1-phase cell cycle arrest in human non-small cell lung cancer cells through endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(3): 981-8.
- [10] 黄微, 王平, 王蔚. 甘草次酸修饰 PEG-PLGA 纳米粒的制备及与肝癌细胞的亲和性[J]. *高等学校化学学报*, 2011, 32(2): 416-420.
- [11] Lallemand B, Ouedraogo M, Wauthoz N. Synthesis and plasma pharmacokinetics in CD-1 mice of a 18  $\beta$ -glycyrrhetic acid derivative displaying anti-cancer activity [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(3): 402-410.
- [12] Lu Y, Li J, Wang G. *In vitro* and *in vivo* evaluation of mPEG-PLA modified liposomes loaded glycyrrhetic acid [J]. *Int J Pharm*, 2008, 356(1-2):274-281.
- [13] 郭波红, 程怡, 林绿萍. 甘草次酸脂质体的制备及其药剂学性质的研究[J]. *中草药*, 2010, 41(3): 380-383.
- [14] 赵晓娟, 范云鹏, 王梦琳. 响应曲面法制备甘草次酸脂质体工艺优化[J]. *南京农业大学学报*, 2012, 35(4): 99-104.
- [15] 王炯, 周小菊, 胡先明. 甘草次酸长循环固体脂质纳米粒的制备与体外性能研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(15): 1364-1367.
- [16] 张亚会, 李喜香, 包强, 等. 甘草次酸-壳聚糖纳米粒的制备及其质量评价 [J]. *中草药*, 2015, 46(15): 2232-2237.
- [17] Hasler F, Krapf R, Brenneisen R. Determination of 18 beta-glycyrrhetic acid in biological fluids from humans and rats by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1993, 620(1): 73-82.
- [18] Guo B H, Cheng Y, Wu W. HPLC assay and pharmacokinetics and tissue distribution study of glycyrrhetic acid liposomes modified with galactosylated lipid [J]. *J Liposome Res*, 2012, 22(2): 120-127.
- [19] Guo B H, Cheng Y, Wu W. HPLC assay and pharmacokinetics and tissue distribution study of glycyrrhetic acid liposomes modified with galactosylated lipid [J]. *J Liposome Res*, 2012, 22(2): 120-127.
- [20] Zhong Y, Wang C, Cheng R, *et al.* cRGD-directed, NIR-responsive and robust AuNR/PEG-PCL hybrid nanoparticles for targeted chemotherapy of glioblastoma *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2014, 195: 63-71.