

和厚朴酚脂质体的制备及其体内外抗乳腺癌作用研究

国瑞琪^{1,2}, 王秋红¹, 王向涛^{1,2}, 匡海学^{1*}

1. 黑龙江中医药大学 教育部北药基础与应用研究重点实验室, 黑龙江省中药天然药物药效物质基础重点实验室, 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

摘要: **目的** 制备和厚朴酚脂质体(HK-Liposomes), 探讨其对小鼠乳腺癌细胞(4T1 细胞)的体内外生长抑制作用。**方法** 将蛋黄卵磷脂、胆固醇、mPEG2000-DSPE2000、和厚朴酚按照质量比 3:1:1:1, 以注入法制备成和厚朴酚脂质体。通过 Zetasizer nano ZS 测定和厚朴酚脂质体的粒径, 透射电镜观察和厚朴酚脂质体的形态。用噻唑蓝(MTT)比色法评价和厚朴酚脂质体对 4T1 细胞的细胞毒性。建立小鼠 4T1 乳腺癌肿瘤模型, 以紫杉醇注射液为阳性对照, 考察腹腔给药后和厚朴酚脂质体对肿瘤的抑制作用。**结果** 制备得到的和厚朴酚脂质体的平均粒径为 (113.8 ± 0.2) nm, 多分散指数 (0.209 ± 0.005) , 电位为 (-30.7 ± 2.4) mV, 透射电镜观察和厚朴酚脂质体为球形。和厚朴酚溶液和脂质体对 4T1 细胞的 IC_{50} 值分别为 (43.74 ± 2.38) μ g/mL 和 (12.52 ± 2.24) μ g/mL。和厚朴酚脂质体高(60 mg/kg)、中(40 mg/kg)、低(20 mg/kg)剂量组的抑瘤率分别为 85.19%、60.95%和 37.83%, 呈剂量相关性。**结论** 实验使用较为简便的制备方法成功制备粒径较小、包封率高的和厚朴酚脂质体。荷瘤小鼠体内实验显示抑瘤效果良好。

关键词: 和厚朴酚; 脂质体; 肿瘤; 乳腺癌细胞; 4T1 细胞

中图分类号: R 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)01-0048-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.01.008

Preparation of honokiol liposomes and their *in vitro* and *in vivo* suppression on breast cancer

GUO Rui-qi^{1,2}, WANG Qiu-hong¹, WANG Xiang-tao^{1,2}, KUANG Hai-xue¹

1. Key Laboratory of Chinese Materia Medica, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Ministry of Education, Heilongjiang Key Laboratory of TCM Pharmacodynamic Material Bases, Harbin 150040, China
2. Ministry of Education Laboratory of Herbal material basis and Resources Utilization, The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Objective To prepare honokiol liposomes (HK Liposomes) and explore their inhibition of breast cancer cells (4T1) *in vitro* and *in vivo*. **Method** The HK Liposomes were prepared by ethanol injection method using egg yolk lecithin, cholesterol, mPEG2000-DSPE2000 and honokiol (3:1:1:1, weight ratio) in formulation. The size of HK liposomes was determined by Zetasizer nano ZS. The morphology of HK Liposomes was observed by transmission electron microscope. MTT assay was used to evaluate the cytotoxic activity of HK liposomes against 4T1 murine breast cancer cell line with free HK as a control. The *in vivo* antitumor effect of the resultant HK Liposomes (ip administration) was evaluated on 4T1-bearing mice at different dose using PTX injection as a positive control. **Results** The HK liposomes were (113.8 ± 0.209) nm in average particle size with smooth surface and spherical shape. The polydispersity index (PDI) value was (0.209 ± 0.005) and zeta potential was (-30.7 ± 2.4) mV. Honokiol liposomes showed significant higher cytotoxicity than free HK against 4T1 cells (IC_{50} value 12.52 μ g/mL vs 43.74 μ g/mL, $P < 0.01$). On 4T1 tumor-bearing mice models, HK liposomes demonstrated a dose-dependent tumor suppression effect with inhibitory rate being 37.83%, 60.95% and 85.19% respectively for low (20 mg/kg), middle (40 mg/kg), and high dose (60 mg/kg). **Conclusion** In

收稿日期: 2016-07-05

作者简介: 国瑞琪(1993—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 专业方向为中药化学。Tel: 13766862957 E-mail: 13766862957@163.com

*通信作者 匡海学(1955—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药性味理论研究、中药及复方药效物质基础及其作用机制研究。

Tel: (0451)82193001 E-mail: hxkuang56@163.com

王向涛(1973—), 男, 研究员, 博士, 主要从事药物新剂型研究。Tel: (010)57833266 E-mail: xtaowang@163.com

contrast, HK liposomes were successfully prepared with high encapsulation efficiency (94%), small particle size (113.8 nm) and demonstrated enhanced *in vitro* and *in vivo* anti-tumor efficacy in comparison with free HK.

Keywords: honokiol; liposomes; tumor; breast cancer cells; 4T1

和厚朴酚(honokiol)来自于中药厚朴,是其最主要的两个活性成分之一。和厚朴酚具有多种生物学活性,如抗菌、抗炎、中枢性肌肉松弛和神经抑制作用、抗血小板凝聚、降低胆固醇、抗肿瘤等^[1],还具有明显的抗肿瘤作用^[2-4]。但是其结构中含酚羟基,稳定性较差,易被氧化。又因其水溶性差,限制了和厚朴酚的开发、应用。前期对和厚朴酚的体内外抗肿瘤作用进行了研究,发现和厚朴酚在体内具有抗肝癌效果^[5],顾伟等^[6]在和厚朴酚对肝癌HepG2细胞生长抑制及凋亡的作用一文也明确肯定了和厚朴酚对肝癌的抑制效果。本文将继续对和厚朴酚针对其他类型肿瘤体内及体外的抗肿瘤作用进行研究。

脂质体系指将药物包封于类脂质双分子层内而形成的超微型球状载体制剂,其结构为一层或多层同心脂质双分子层,亦称类脂小球或液晶微囊。脂质体材料与生物体细胞膜成分相似,具有良好的生物相容性和生物可降解性。此外,脂质体还具有肿瘤靶向和缓释作用^[1]。在已报道的各实验研究中对脂质体的制备方法多采用薄膜-超声分散法制备,而本实验采用注入法制备和厚朴酚脂质体,操作简便易行,且药载比、包封率优于许多文献报道。

1 仪器与试剂与细胞

1.1 仪器

Meppler Toledo AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);PURELAB Classic 综合纯水仪(英国 ELGA 公司);KQ3200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);RE-52CS 型旋转蒸发器(上海振捷实验设备有限公司);HW·SY11-K2 电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表有限公司);Zetasizer-nanozs 90 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(马尔文仪器有限公司);Ultimate 3000 Series 高效液相色谱仪(戴安中国有限公司);Maisch Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);MCA-15AC 细胞培养箱(日本 Sanyo 公司);Tecan M1000 多功能连续波长酶标仪(瑞士);0.22 μm 超速离心管(美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与细胞

和厚朴酚(上海士峰生物科技有限公司,质量分数 98.0%,批号 35354-74-6),mPEG2000-DSPE2000(上海拓昶生物科技有限公司);卵磷脂(广州白云山汉方现代药业有限公司,批号 A4150920);4T1 细胞(北京协和医学院基础所细胞中心);RPMI 1640 培养基、胎牛血清、青霉素和链霉素双抗(美国 Gibco 公司);96 孔无菌培养板(美国 Corning 公司);3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(噻唑蓝,MTT,美国 Sigma 公司);乙腈(色谱纯,HiPure Chem 公司),乙醇、二甲基亚砜(DMSO)等其他药品及试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法和结果

2.1 和厚朴酚脂质体的制备及其粒径分布

将和厚朴酚、mPEG2000-DSPE2000、胆固醇、卵磷脂按照 1:1:1:3(质量比)溶于 1 mL 乙醇中,超声(25 °C、250 W)条件下匀速缓慢注入到 5 mL 去离子水中,45 °C 减压旋转蒸发除去乙醇后得到和厚朴酚脂质体。以 Zetasizer nano ZS 型粒度仪测定和厚朴酚脂质体的粒径、粒度分布和表面电位。

将蛋黄卵磷脂、胆固醇、mPEG2000-PCL2000、和厚朴酚按照质量比 3:1:1:1 成功以乙醇注入法制备了和厚朴酚脂质体,其平均粒径为(113.8±0.2) nm, PDI 值为(0.209±0.005)(图 1), Zeta 电位为(-30.7±2.4) mV。

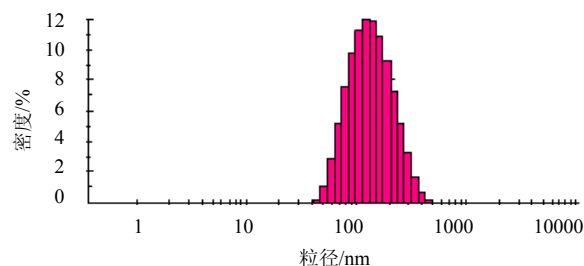


图 1 和厚朴酚脂质体的粒径分布图

Fig. 1 Particle size and distribution of HK-Liposomes

2.2 和厚朴酚脂质体包封率的测定

精密移取 0.5 mL 脂质体置于超滤离心管中 5 000 r/min 离心 1 h。HPLC 测定滤液中和厚朴酚含量,计算未包封的和厚朴酚量(M_1)。色谱条件:Symmetry C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相

为乙腈-0.2%甲酸水(75:25), 体积流量 1.0 mL/min, 紫外检测波长 294 nm, 柱温 25℃, 进样量 20 μ L。另外精密移取 0.5 mL 脂质体, 用乙腈稀释 5 倍后测定和厚朴酚浓度, 计算这 0.5 mL 脂质体中和厚朴酚总量 (M_2), 计算包封率 (EE), 计算公式为 $EE = (M_2 - M_1) / M_2$ 。

以 HPLC 法在 294 nm 处对和厚朴酚进行含量测定, 其标准曲线方程为 $A = 0.792\ 48\ C - 0.309\ 07$ ($R^2 = 0.999\ 8$), 线性范围 0.1~200 μ g/mL。通过对和厚朴酚脂质体内游离和厚朴酚以及总和厚朴酚的量进行测定, 计算得到脂质体包封率为 94%, 证明和厚朴酚脂质体的制备比较成功。

2.3 和厚朴酚脂质体透射电镜观察

以和厚朴酚含量计, 将制备的和厚朴酚脂质体稀释到 0.1 mg/mL, 分别取 5 μ L 样品滴在 300 目的铜网上, 5 min 后吸去多余的脂质体, 晾置于阴凉处 10 min 后, 再用 5 μ L 0.5% 的醋酸铀染色 1.5 min, 自然晾干 3 h 后, 透射电镜下观察并拍照, 加速电压 80 kV。

在透射电镜下观察和厚朴酚脂质体类球形, 分布较为均匀, 平均粒径为 50 nm 左右 (图 2)。

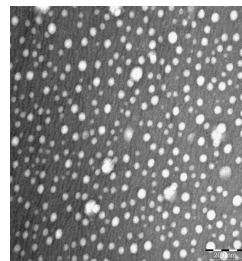


图 2 和厚朴酚脂质体透射电镜照片

Fig. 2 Transmission electron microscope images of HK Liposomes

2.4 和厚朴酚脂质体不同介质稳定性考察

精密吸取 1 mL 和厚朴酚脂质体逐渐滴加到等体积的 2×PBS 缓冲液、1.8% NaCl 溶液、10%葡萄糖溶液、人工胃液、人工肠液中, 37℃ 孵育, 考察其在各介质中不同时间点的粒径变化。另将和厚朴酚脂质体放置于室温下储存, 在不同时间点测其粒径, 考察其室温放置稳定性。以上各实验平行进行 3 份。由表 1 中可见和厚朴酚脂质体在 PBS 缓冲液、0.9% NaCl 溶液、5%葡萄糖溶液、人工胃液、人工肠液中均能够稳定存在, 7 h 后在各介质中和厚朴酚脂质体平均粒径均在 90~119 nm, 比较稳定。

表 1 HK 脂质体在不同分散介质中的稳定性考察 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 The stability of HK Liposomes in different dispersed medium ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

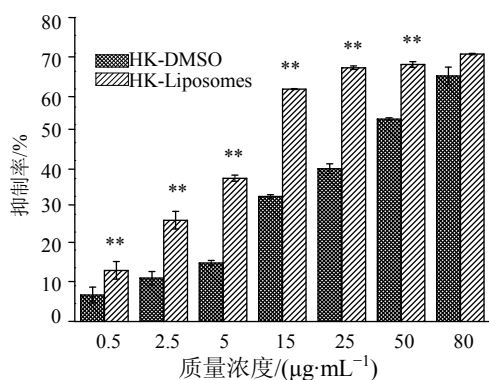
介质	粒径/nm				
	0 h	1 h	3 h	5 h	7 h
人工胃液	117.9 $\pm$ 2.05	117.4 $\pm$ 3.014	114.0 $\pm$ 1.779	119.1 $\pm$ 2.328	114.1 $\pm$ 2.234
人工肠液	107.3 $\pm$ 1.249	107.2 $\pm$ 2.307	104.4 $\pm$ 2.031	108.3 $\pm$ 2.316	102.3 $\pm$ 1.274
PBS	107.0 $\pm$ 1.054	106.9 $\pm$ 1.179	105.0 $\pm$ 1.778	101.9 $\pm$ 1.328	98.38 $\pm$ 1.960
0.9%NaCl	108.8 $\pm$ 3.675	97.64 $\pm$ 2.731	95.78 $\pm$ 1.155	95.00 $\pm$ 2.228	90.32 $\pm$ 2.171
5%葡萄糖	114.9 $\pm$ 1.457	119.5 $\pm$ 1.888	115.7 $\pm$ 3.027	115.3 $\pm$ 1.361	108.8 $\pm$ 3.675

2.5 和厚朴酚脂质体对 4T1 细胞的抑制率

配制含 10%胎牛血清、100 U/mL 的青、链霉素的 1640 培养液。于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 4T1 细胞, 每 2 天更换 1 次培养液并用胰酶消化传代。将生长到对数期且细胞密度达到 80%~90% 的 4T1 细胞用所配制的 1640 培养液配成单个细胞悬液, 以 1×10^4 个细胞每孔接种于 96 孔板中, 继续用 5% CO₂、37℃ 培养细胞。24 h 后吸去培养液, 加上 200 μ L 含药不含胎牛血清的培养基继续培养, 24 h 后按照 0 (对照组)、0.5、2.5、5、15、25、50、80 μ g/mL 的质量浓度给药, 每个质量浓度 6 个

复孔, 孵育 24 h 后每孔加入 20 μ L 用 PBS 配制的 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 继续孵育 4 h, 终止培养, 吸去各孔内液体, 每孔加 DMSO 溶液 200 μ L, 充分震荡, 使蓝紫色沉淀溶解后, 用酶标仪测定 570 nm 波长处的吸光度 (A_{570}) 值。不同质量浓度和厚朴酚脂质体溶液对乳腺癌细胞的增殖抑制率 = (对照组 A_{570} - 用药组 A_{570}) / 对照组 A_{570} 。

不同给药浓度下和厚朴酚脂质体和游离药物对 4T1 细胞的抑制情况见图 3。可以看出相同剂量下和厚朴酚脂质体组比和厚朴酚溶液组对细胞的杀伤效果更为明显; 孵育 24 h 后脂质体和游离药物对



与 DMSO 组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs DMSO group

图3 和厚朴酚脂质体作用 48 h 后对 HepG2 细胞增殖抑制曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Proliferation inhibition of HK liposomes against 4T1 cells after 24 h of incubation ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

4T1 细胞的 IC_{50} 值分别为 43.74、12.52 $\mu\text{g/mL}$, 两组 IC_{50} 值具有显著性差异 ($P < 0.01$), 证明将和厚朴酚制备成脂质体有利于提高其药效。

2.6 和厚朴酚脂质体的药效学实验

2.6.1 动物模型的建立 将体外培养至对数期的 4T1 细胞用 PBS 配成细胞密度为 1×10^7 个/mL 的细胞悬液, 取 0.2 mL 接种于雌性小鼠腋下, 7 d 后用游标卡尺量肿瘤大小, 当肿瘤长大约 300 mm^3 时筛选出瘤体积相对一致的 60 只荷瘤小鼠进行实验。

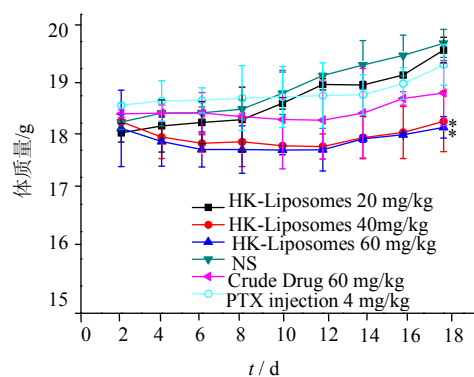
2.6.2 实验分组与给药 将 60 只荷瘤小鼠随机分为 6 组, 分别为和厚朴酚脂质体高 (60 mg/kg)、中 (40 mg/kg)、低 (20 mg/kg) 3 个剂量的实验组 (均 ip 给药), 以及紫杉醇 (PTX) 注射剂组 (4 mg/kg, ip)、和厚朴酚悬浮液组 (60 mg/kg, ig)、生理盐水对照组。以上 6 组实验动物按照给药剂量隔天给药 1 次。连续给药 9 次。

2.6.3 药效评价指标 实验中观察小鼠的一般生理情况及移植瘤体积生长情况。每次给药前称量小鼠体质量并记录, 对比治疗前后体质量变化。同时以游标卡尺测量皮下移植瘤最长径 a 和垂直的短径 b , 根据公式肿瘤体积 (V) = $ab^2/2$ 计算肿瘤体积, 绘制每组动物平均肿瘤体积随时间变化的曲线图。最后一次给药 24 h 后脱颈处死动物, 剥离肿瘤并称瘤质量 (W), 按照下面的共识计算肿瘤抑瘤率。

$$\text{肿瘤抑瘤率} = (1 - W_{\text{实验组}} / W_{\text{生理盐水对照组}})$$

2.6.4 药效学实验结果

(1) 给药后小鼠体质量变化曲线 4T1 荷瘤小鼠在给药期间的体质量变化见图 4, 可以看出, 对照组小鼠的体质量始终呈增长的趋势。统计学分析显示, 和厚朴酚脂质体中、高剂量组与生理盐水组相比具有显著性差异 ($P < 0.05$), 其他组别未见显著性差异。说明给定剂量下中、高剂量组对小鼠生长具有一定毒副作用。而和厚朴酚脂质体低剂量组、紫杉醇注射液组、和厚朴酚悬浮液组对小鼠生长未见明显毒性。



与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

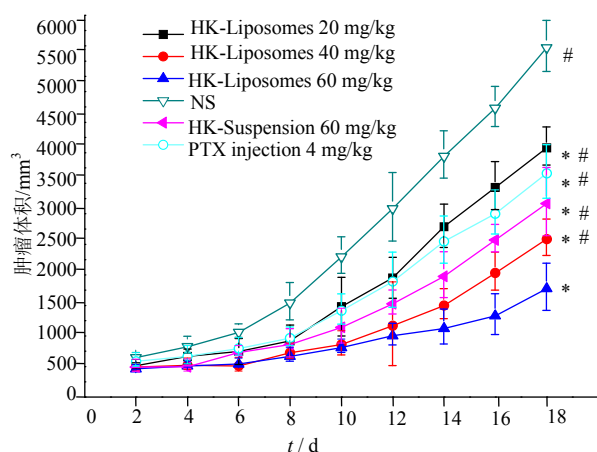
* $P < 0.05$ vs saline group

图4 给药后各组小鼠的体质量变化 ($n=10$)

Fig. 4 The body weight change of mice after ip administration of HK-Liposomes, PTX injection, negative control and ig administration of HK-Suspension ($n = 10$)

(2) 给药后小鼠肿瘤体积变化曲线 试验过程中肿瘤体积变化趋势见图 5。肿瘤增长速度由慢到快依次为脂质体高剂量组、中剂量组、灌胃高剂量组、紫杉醇阳性药组、脂质体低剂量组、生理盐水组。再将各组与生理盐水组对比, 分别做统计学差异均显示出具有显著性差异 ($P < 0.001$), 说明各给药组均对肿瘤生长起到抑制作用。将各组对脂质体高剂量组做统计学考察, 各组与脂质体高剂量组均具有统计学差异 ($P < 0.001$), 说明 HK 脂质体的药效优于其他各组及阳性药组。显示 HK 脂质体具有潜在研究开发的临床价值。

(3) 和厚朴酚脂质体对小鼠肿瘤生长抑制率 最后一次给药后 24 h 解剖小鼠后得到实体瘤并称量肿瘤质量。以生理盐水组的小鼠肿瘤质量为对照, 各实验组肿瘤抑制率见表 2。解剖后得出数据与活体测量瘤体积的数据基本一致, 各给药组相对于生



与生理盐水组比较: * $P < 0.001$; 与和厚朴酚脂质体高剂量组比较: # $P < 0.001$

* $P < 0.001$ vs saline group; # $P < 0.001$ vs HK-Liposomes 60 mg/kg group

图5 和厚朴酚脂质体、混悬剂和PTX阳性药对4T1荷瘤小鼠的抑瘤率($n=10$)

Fig.5 The *in vivo* antitumor effects of HK-Liposomes in 4T1 tumor-bearing mice ($n=10$)

表2 HK-Nps对4T1小鼠的抑瘤率($n=10$)

Table 2 The *in vivo* antitumor effects of HK-Liposomes in 4T1 tumor-bearing mice ($n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肿瘤质量/g	抑制率/%
生理盐水	—	1.840 0±0.170 5 [#]	—
PTX	5	0.816 7±0.207 9 [#]	55.62
和厚朴酚原料	60	0.990 0±0.143 3 [#]	46.20
和厚朴酚脂质体	20	1.144 0±0.207 9 [#]	37.83
	40	0.718 6±0.123 6 [#]	60.95
	60	0.272 5±0.061 3 [*]	85.19

与生理盐水组比较: * $P < 0.001$; 与和厚朴酚脂质体高剂量组比较: # $P < 0.001$

* $P < 0.001$ vs saline group; # $P < 0.001$ vs HK-Liposomes 60 mg/kg group

理盐水组显著抑制肿瘤生长。脂质体中、高剂量组抑瘤率明显高于阳性药组。和厚朴酚脂质体中剂量组的肿瘤抑制率高于高剂量的和厚朴酚原料药组,说明脂质体可有效提高和厚朴酚药物的抗肿瘤效果,为和厚朴酚抗肿瘤应用的合适剂型。

3 结论

本研究采用乙醇注入法成功制备了小粒径的和厚朴酚脂质体。平均粒径是衡量脂质体制备成功与否的重要参数,平均粒径越小,越有利于脂质体在机体内的被动靶向作用,较大的电位绝对值有利于其在水中通过静电斥力而稳定存在。吴德强^[7]在和

厚朴酚脂质体的制备及表征一文中,制备的脂质体粒径为150 nm。张卿^[8]在和厚朴酚固体脂质纳米粒的制备及性质研究一文中,记录制备得到的脂质体平均粒径为159 nm。而本文所制备的脂质体平均粒径为113.8 nm,较小的粒径更利于脂质体在体内的被动靶向作用,有助于提高其作为抗癌药物的药效。初步结果显示所制备的脂质体室温放置稳定性良好,具有继续研究的意义。透射电镜下观察到脂质体粒径较马尔文粒径仪测得的粒径小,这是由于TEM中测的为脂质体粒子在干态情况下的粒径,而激光粒度仪测得的粒径为水化粒径。所以TEM中观察到的和厚朴酚脂质体的粒径大小小于马尔文粒径仪中测到的粒径值。和厚朴酚脂质体在人工胃液、等渗溶液及缓冲盐中粒径变化较小,显示所制备的和厚朴酚脂质体既能口服给药,也可注射给药,可用于多种给药方式及剂型的制备。

现有关于和厚朴酚的研究较多,但对于和厚朴酚抑制乳腺癌细胞的体内增殖作用的文章较少。张宇等^[9]在和厚朴酚脂质体联合阿霉素抑制4T1细胞增殖的机制研究一文是为数不多的有关和厚朴酚有关乳腺癌细胞的研究,但其仅限于体外研究,而且主要为联合用药,逆转多药耐药性。本文则主要研究和厚朴酚单独给药对于乳腺癌细胞的体内外生长、增殖的影响。无论是本试验中单独对于乳腺癌细胞还是其他文献中对于胶质瘤^[11]、口腔鳞癌^[12]、结肠癌^[13]细胞其抑瘤效果已经得到证实,但针对以上几种细胞均未尝试脂质体载药,后续研究中将继续探讨脂质体对以上肿瘤细胞的抑制作用,顺便筛选对和厚朴酚更为敏感的细胞株。

参考文献

- [1] 刘晓谦,王锦玉,全燕,等.脂质体制备技术及其研究进展[J].中国药学杂志,2011,46(14):1084-1088.
- [2] 陈淑珍.和厚朴酚的抗肿瘤实验治疗及其分子作用靶点的研究进展[J].药学学报,2016,51(2):202-207.
- [3] 刘丽,彭枫.和厚朴酚的抗肿瘤作用研究进展[J].华西医学,2006,21(3):629-630.
- [4] 王冬娥,陆羨.和厚朴酚的药理作用及其抗肿瘤的机制研究进展[J].医学综述,2009,15(11):1725-1727.
- [5] 郑欢,于鑫,李之韬,等.高载药量和和厚朴酚纳米粒的制备及其抗肿瘤作用研究[J].药物评价研究,2015,38(3):292-296.
- [6] 顾伟,范听建,吴疆,等.和厚朴酚对肝癌HepG2细胞生长抑制及凋亡的作用[J].细胞与分子免疫学杂志,2008,24(6):620-622.

- [7] 吴德强. 和厚朴酚脂质体的制备及表征 [J]. 实用中西医结合临床, 2014, 14 (8): 86-88.
- [8] 张 卿, 张良珂, 袁 佩, 等. 和厚朴酚固体脂质纳米粒的制备及性质研究 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 1875-1879.
- [9] 张 宇, 白海昕, 邵永祥, 等. 和厚朴酚脂质体联合阿霉素抑制 4T1 细胞增殖的机制研究 [J]. 中国实验诊断学, 2012, 12(6): 983-985.
- [10] 邓亚利, 林芳花, 何秀华, 等. 羧基化碳纳米管负载羟基喜树碱的制备、表征及肠吸收特性考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 5-9.
- [11] Chang K H, Yan M D, Yao C J, et al. Honokiol induced apoptosis and autophagy in glioblastoma multiforme cells [J]. *Oncology letters*, 2013, 6: 1435-1438.
- [12] Chen X R, Lu R, Dan H X, et al. Honokiol: a promising small molecular weight natural agent for the growth inhibition of oral squamous cell carcinoma cells [J]. *Int J Oral Sci*, 2011, 3: 34-42.
- [13] 谭 茵, 莫立乾, 蔡玉婷. 和厚朴酚对结肠癌细胞生长影响及 Caspase 凋亡途径相关蛋白的表达研究 [J]. 实用医学杂志, 2011, 27(14): 2509-2512.