

积雪草苷修饰脂质体在大鼠体内的药动学及组织分布研究

陈静怡¹, 任翔², 王晓辉^{1*}, 彭倩¹, 陈莉¹, 张岭¹, 李京洋¹, 张津宁¹, 张莉^{1*}

1. 武警后勤学院救援医学系 生药与药剂学教研室, 天津 300309

2. 武警四川省总队成都医院 药械科, 四川 成都 610041

摘要: 目的 将积雪草苷制成修饰脂质体, 考察该制剂在体内的药动学过程及组织分布情况。方法 SD大鼠尾iv积雪草苷溶液及经过D-甘露糖或十八胺修饰和未经修饰的脂质体制剂, 不同时间点采集大鼠血浆及组织, 样品处理后采用HPLC法检测血浆与组织中的药物浓度, 绘制药-时曲线, 计算药动学参数, 比较积雪草苷剂型间在体内药动学参数和组织分布的差异。结果 积雪草苷、积雪草苷脂质体、D-甘露糖-积雪草苷脂质体、十八胺-积雪草苷脂质体4种制剂的药-时曲线均符合权重为 $1/C^2$ 的单室模型。积雪草苷溶液及各脂质体的消除半衰期($t_{1/2}$)分别为 (14.52 ± 0.56) 、 (101.35 ± 12.47) 、 (149.82 ± 20.00) 、 (159.58 ± 16.46) min, 药时曲线下面积(AUC)分别为 $(1\,929.70 \pm 159.00)$ 、 $(57\,004.35 \pm 8\,710.89)$ 、 $(93\,736.52 \pm 12\,710.76)$ 、 $(64\,737.48 \pm 6\,365.28)$ min· $\mu\text{g/mL}$ 。同时制成脂质体后, 积雪草苷在各器官中的质量分数显著上升, 在肺部的质量分数由 (4.94 ± 0.94) $\mu\text{g/g}$ 升至 (39.12 ± 12.04) $\mu\text{g/g}$ 。结论 将积雪草苷制成修饰脂质体制剂后, 缓释明显, 并能增强靶向作用。

关键词: 积雪草苷; 修饰脂质体; 药动学; 组织分布; HPLC; 缓释; 靶向作用

中图分类号: R94 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)21-4419-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.21.009

Pharmacokinetics and tissue distribution study in rats of asiaticoside-loaded modified liposomes

CHEN Jing-yi¹, REN Xiang², WANG Xiao-hui¹, PENG Qian¹, CHEN Li¹, ZHANG Ling¹, LI Jing-yang¹, ZHANG Jin-ning¹, ZHANG Li¹

1. Department of Rescue Medicine, Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300309, China

2. Department of Pharmacy, Chengdu Hospital of Chinese People's Armed Police Force, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To prepare asiaticoside-loaded modified liposomes and to investigate the distribution and pharmacokinetics. **Methods** Different asiaticoside-loaded preparations (include solution, modified, and unmodified liposomes) were injected by tail vein in SD rats. HPLC method was used to detect the concentration of asiaticoside in the tissue and plasma samples. And the concentration-time profiles and pharmacokinetic parameters were then obtained and compared to get the variances. **Results** The concentration-time profiles of asiaticoside-loaded preparations guided along the single compartment model which the weight is $1/C^2$. The elimination half-life of asiaticoside solution and different asiaticoside liposomes were (14.52 ± 0.56) , (101.35 ± 12.47) , (149.82 ± 20.00) , and (159.58 ± 16.46) min, respectively. The AUC of asiaticoside solution and different asiaticoside liposomes were $(1\,929.70 \pm 159.00)$, $(57\,004.35 \pm 8\,710.89)$, $(93\,736.52 \pm 12\,710.76)$, and $(64\,737.48 \pm 6\,365.28)$ min· $\mu\text{g/mL}$, respectively. The mass fraction of asiaticoside in each organ increased, especially in the pulmonary which increased from (4.94 ± 0.94) $\mu\text{g/g}$ to (39.12 ± 12.04) $\mu\text{g/g}$. **Conclusion** The sustained release and targeting effects in SD rats were obvious of the asiaticoside-loaded modified liposomes. **Key words:** asiaticoside; modified liposome; pharmacokinetics; tissue distribution; HPLC; sustained release; targeting effects

积雪草苷(asiaticoside)是我国传统中药材积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban. 中的主要有效成分, 药理活性多样^[1-4], 新近研究显示, 其可以抑制成纤维细胞的增殖, 改善肺组织的纤维化进程^[5]。

收稿日期: 2017-06-06

基金项目: 武警后勤学院基础研究项目(WHJ201501)

作者简介: 陈静怡(1993—), 女, 在读硕士, 研究方向为微粒给药系统。Tel: 15620960443 E-mail: 1091018382@qq.com

*通信作者 张莉(1962—), 女, 教授, 研究方向为药物制剂学研究。Tel: 18622231913 E-mail: zhli62tianjin@163.com

王晓辉(1984—), 男, 讲师, 项目负责人。Tel: 13752273515 E-mail: 41080106@qq.com

积雪草苷目前在临床上主要用来促进创伤愈合,抑制瘢痕生成^[6],其给药方式主要有经皮给药和口服给药,主要剂型有积雪草苷片、积雪草苷胶囊、积雪草苷霜软膏等。本研究拟针对其抑制肺纤维化这一药理活性制备出具有肺部靶向性的积雪草苷制剂,为肺纤维化的治疗提供一条新的思路。

由于积雪草苷直接注射后会产生溶血等不良反应,同时在体内半衰期短,初期实验结果显示脂质体作为该药物载体具有较好的生物相容性和一定的靶向性,为进一步提高肺靶向性,采用 *D*-甘露糖或十八胺对脂质体进行修饰^[7],同时对制备的积雪草苷修饰脂质体进行体内药动学及组织分布研究,了解其在体内的药动学规律及分布特征,为积雪草苷的临床应用奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

JA3003 1/1 000 电子天平,上海精密科学仪器有限公司;AT250 1/100 000 天平,瑞士 Mettler Toledo 公司;R-124 旋转蒸发仪,瑞士 Buchi 公司;LC-20AT 高效液相色谱仪、SPD-M20A 紫外可见检测器、日本岛津公司;1-15PK 型超速离心机,德国 Sigma 公司;MTN-2800W 氮气吹干仪,北京华瑞博远科技有限公司;JEM2010FEF 透射电子显微镜(TEM),日本 JEOL 公司。

1.2 药品与试剂

积雪草苷原料药,广西昌洲天然药业有限公司,批号 100120,质量分数 $\geq 60\%$;积雪草苷对照品,成都曼思特生物科技有限公司,批号 12272102,质量分数 $\geq 98\%$;胆固醇,天津市光复精细化工研究所,批号 20141009;生育酚,西南合成制药股份有限公司,批号 201301003;大豆磷脂,上海太伟药业有限公司,批号 20140201;*D*-甘露糖,国药集团化学试剂有限公司,批号 20141020;十八胺,天津市福晨化学试剂厂,批号 20140712,质量分数 $\geq 99\%$;甲醇、乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD 大鼠,雄性,体质量 220~250 g,10~12 周龄,中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(军)2012-0004。实验前 12 h 禁食不禁水。

2 方法与结果

2.1 积雪草苷制剂的制备

2.1.1 积雪草苷溶液的制备

取适量积雪草苷原料,溶于 400 μL 丙二醇中,超声助溶,直至溶液澄明,继而加入 600 μL 的注射用水,混匀,得到积雪草苷溶液^[8]。

2.1.2 积雪草苷修饰脂质体的制备 根据前期实验结果^[9],取适量磷脂、胆固醇、积雪草苷、生育酚,比例为 300:51:21:10,置于圆底烧瓶中,10 mL 乙醇溶解,使用旋转蒸发仪在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下减压蒸发 1 h(真空度为 0.090~0.095 MPa,转速 100 r/min),待乙醇充分挥发后得到脂质薄膜。在附有脂质薄膜的烧瓶中加入适量 PBS(磷酸盐缓冲液, pH 7.4)水化 1 h,使薄膜自然脱落形成纳米级球状微粒,继而使用均质机匀粒,即得积雪草苷脂质体。

在此基础上,在 PBS 中添加 *D*-甘露糖,得到 *D*-甘露糖-积雪草苷脂质体;在乙醇中加入十八胺,得到十八胺-积雪草苷脂质体,其余同积雪草苷脂质体的制备。使用马尔文纳米粒度仪测定 *D*-甘露糖-积雪草苷脂质体的平均粒径为 119.7 nm,见图 1-A,多分散系数(PDI)为 0.196, ζ 电位为 -5.60 mV。十八胺-积雪草苷脂质体的平均粒径为 120.4 nm,见图 1-B, PDI 为 0.207, ζ 电位为 20.8 mV。电镜下的脂质体形态见图 2。

2.2 HPLC 法测定血浆及组织样品中的积雪草苷

2.2.1 测定组织中积雪草苷的色谱条件 色谱柱为 ODS Hypersil C₁₈ 分析柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm , 美国 Thermo Scientific 公司);流动相为乙腈-醋酸

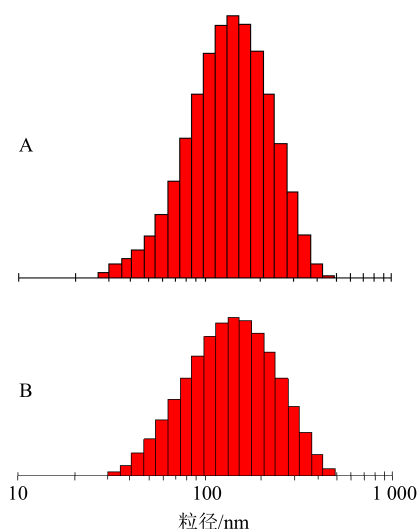


图 1 *D*-甘露糖-积雪草苷脂质体 (A) 与十八胺-积雪草苷脂质体 (B) 的粒径分布图

Fig. 1 Size distribution of *D*-mannose modified asiaticoside-loaded liposome (A) and octadecylamine modified asiaticoside-loaded liposome (B)

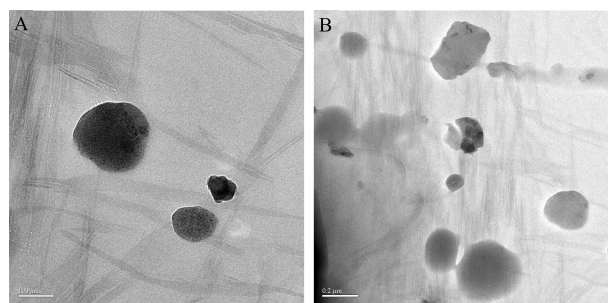


图2 *D*-甘露糖-积雪草苷脂质体 (A, $\times 20\,000$) 与十八胺-积雪草苷脂质体 (B, $\times 10\,000$) 的透射电镜图

Fig. 2 Transmission electron micrograph of *D*-mannose modified asiaticoside-loaded liposome (A, $\times 20\,000$) and octadecylamine modified asiaticoside-loaded liposome (B, $\times 10\,000$)

水溶液 (磷酸 2 mL, 水 760 mL, 25 : 75); 柱温 35 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 205 nm; 进样量 20 μ L。

2.2.2 测定血浆中积雪草苷的色谱条件 在“2.2.1”项基础上, 将色谱柱改为 Tri-Sal Plus C_{18} 分析柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, Saga 公司), 检测波长为 220 nm, 其余同“2.2.1”项。

2.2.3 标准曲线 根据预试验, 制备药物在血浆及各组织中的标准曲线。由于在脾部药物质量分数跨度较大, 因此制备高、低 2 条标准曲线。

精密量取适量积雪草苷对照品置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 得到积雪草苷对照品储备液, 分别用甲醇进行稀释, 得到系列质量浓度的积雪草苷对照品溶液。分别取系列质量浓度的积雪草苷对照品溶液 50 μ L 于 EP 管中, 氮气吹干, 加入 200 μ L 空白血浆或 200 μ L 组织匀浆, 涡旋 1 min, 加 400 μ L 甲醇沉淀蛋白, 继续涡旋 1 min, 12 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清进样, 采用“2.2.1”或“2.2.2”项下 HPLC 法进行检测。最终得到积雪草苷在血浆及各组织的标准曲线, 血浆: $A=464.25\rho-168.41$, $r^2=0.999\,8$, 线性范围 0.92~367.50 μ g/mL; 肺: $A=540.71\rho-352.08$, $r^2=0.998\,6$, 线性范围 2.30~57.60 μ g/mL; 脾 (高): $A=576.90\rho-7\,514$, $r^2=0.999\,9$, 线性范围 36.00~576.00 μ g/mL; 脾 (低): $A=626.21\rho-116.47$, $r^2=0.995\,0$, 线性范围 2.30~57.60 μ g/mL; 肾: $A=531.87\rho-574.33$, $r^2=0.997\,7$, 线性范围 1.73~57.60 μ g/mL; 肝: $A=555.58\rho-1\,838.40$, $r^2=0.998\,3$, 线性范围 5.76~115.20 μ g/mL。

2.2.4 最低检测限 将对照品溶液持续稀释, 直至 $S/N\geq 3$, 此时质量浓度为 0.92 μ g/mL。

2.2.5 方法专属性 将积雪草苷溶液、积雪草苷脂质体及修饰脂质体分别给予大鼠尾 iv, 取血及组织脏器, 按“2.2.3”项操作, 记录色谱图。取未给药大鼠血浆及组织脏器, 同法操作, 得空白血浆及空白组织的色谱图, 见图 3。在该色谱条件下, 积雪草苷能与样品中的其他物质完全分离。

2.2.6 提取回收率及日内、日间精密度 分别在不同 EP 管中加入 50 μ L 高、中、低 3 个质量浓度的积雪草苷溶液, 氮气吹干, 加 200 μ L 空白血浆或组织匀浆, 涡旋 1 min 后分别制得含高、中、低 3 个质量浓度积雪草苷的血浆及组织匀浆, 继续加入 400 μ L 甲醇后涡旋 1 min 沉淀蛋白, 12 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清, 液相检测。所得峰面积与同浓度积雪草苷溶液进行比较, 获得提取回收率。同时, 对所得样品, 分别在 1 d 内进样 3 次, 得日内精密度。在 3 d 内, 每天分别进样 1 次, 得日间精密度。所得结果见表 1。

结果表明, 积雪草苷在血浆及组织匀浆中的提取回收率均在 80% 以上, 同时日内、日间精密度在均小于 6%, 符合测定要求。

2.2.7 稳定性试验 将制得的积雪草苷对照品溶液置于室温下, 分别在 0、2、4、8、12 h 后进样测定, 得其稳定性实验的 RSD 为 0.65%。

2.3 药动学研究

取雄性 SD 大鼠 20 只, 随机分为 4 组, 每组 5 只, 按 20 mg/kg 积雪草苷分别尾 iv 积雪草苷溶液、积雪草苷脂质体、*D*-甘露糖-积雪草苷脂质体、十八胺-积雪草苷脂质体。大鼠采用眼底静脉丛取血^[10], 积雪草苷溶液组的总取血时间为 1 h, 各脂质体组的总取血时间为 10 h。血样使用经肝素润洗的 EP 管接收, 每次取约 0.5 mL, 混合均匀后 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 加二倍量甲醇沉淀蛋白, 涡旋 1 min, 12 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清, 直接进样检测, 绘制药-时曲线, 结果见图 4。

所得结果使用 PK Solver 进行模型拟合^[11], 并分别给予不同的权重。根据 AIC 值最小原则, 所有制剂的代谢均符合权重为 $1/C^2$ 的单室模型, 所得相关药动学参数见表 2。积雪草苷溶液的消除半衰期 ($t_{1/2}$) 为 (14.52 ± 0.56) min, 而积雪草苷各脂质体制剂的 $t_{1/2}$ 分别为溶液的 6.98、10.31、10.99 倍。实验结果表明, 脂质体可显著延长积雪草苷在大鼠体

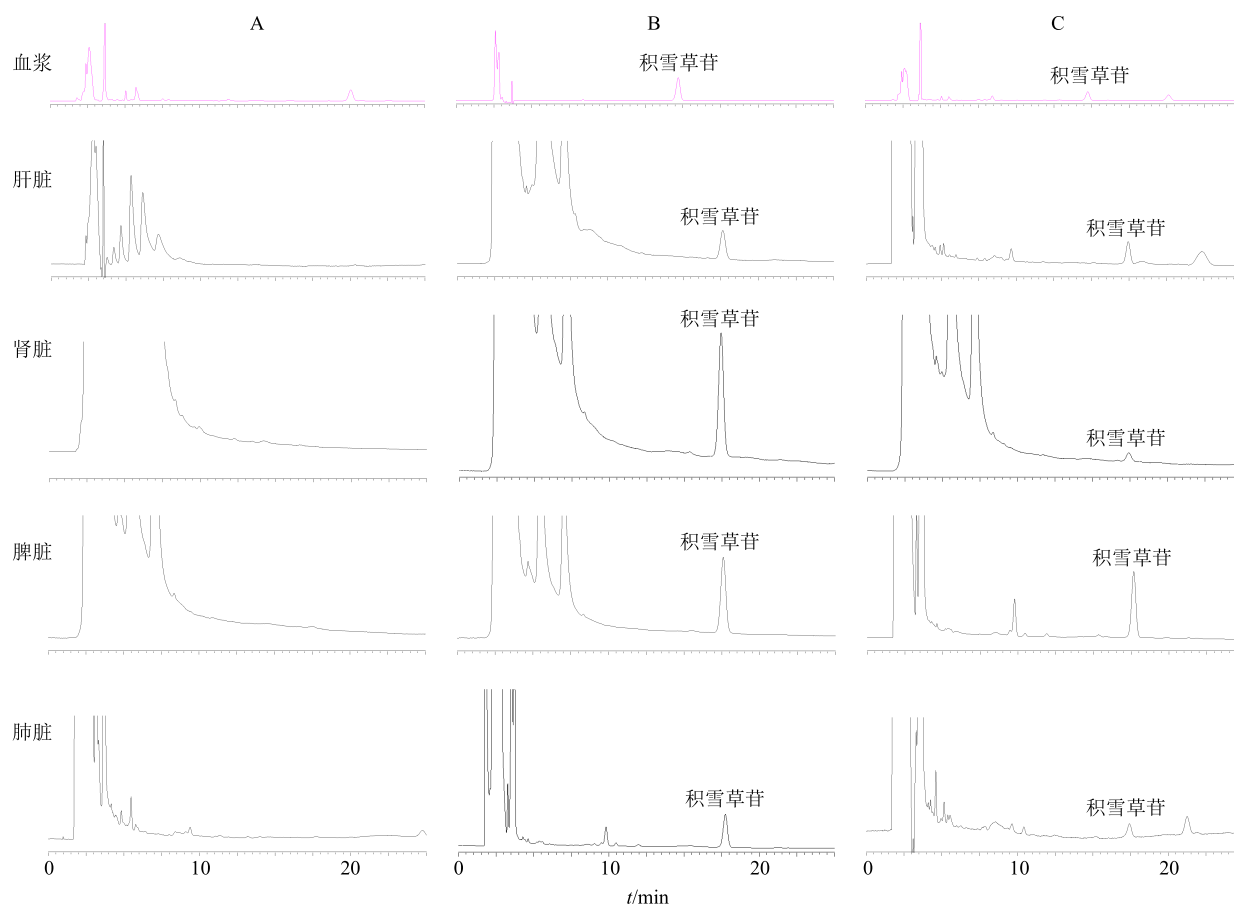


图 3 空白血浆或组织 (A)、空白血浆或组织+积雪草苷 (B) 和血浆或组织样品 (C) HPLC 图

Fig. 3 HPLC of blank plasma or tissue (A), blank plasma or tissue spiked with asiaticoside (B), and plasma or tissue sample (C)

表 1 积雪草苷在血浆及各组织中的提取回收率及日内、日间精密度 ($n=3$)Table 1 Recovery, precision intra-day and precision inter-day for analysis of asiaticoside in blood and different tissues of rats ($n=3$)

样品	质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	精密度 RSD/%		样品	质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	精密度 RSD/%	
			日内	日间				日内	日间
血浆	4.59	91.64 $\pm$ 2.28	2.99	3.61	脾 (低)	0.40	87.08 $\pm$ 2.12	2.92	1.25
	45.94	91.15 $\pm$ 1.16	1.19	1.71		2.00	94.60 $\pm$ 3.30	5.51	2.47
	367.50	98.49 $\pm$ 0.42	0.79	0.49		10.00	84.31 $\pm$ 1.68	1.98	1.84
肺	0.40	92.41 $\pm$ 5.56	3.07	3.80	肾	0.20	94.47 $\pm$ 0.42	0.96	0.88
	2.00	90.33 $\pm$ 5.81	1.41	2.67		2.00	79.61 $\pm$ 2.38	1.02	2.27
	10.00	91.74 $\pm$ 0.05	0.86	0.21		10.00	88.99 $\pm$ 1.50	1.64	0.55
脾 (高)	3.13	83.25 $\pm$ 0.21	3.91	1.56	肝	1.00	84.06 $\pm$ 1.28	4.07	0.15
	12.50	94.81 $\pm$ 1.64	0.80	0.94		5.00	79.84 $\pm$ 1.56	1.14	0.64
	100.00	92.19 $\pm$ 0.21	0.14	0.10		20.00	94.98 $\pm$ 0.71	0.53	0.52

内的半衰期。同时,积雪草苷脂质体制剂的药-时曲线下面积 (AUC) 也远远高于溶液组,分别为其 29.54、48.58、33.55 倍。积雪草苷溶液的清除率 (CL) 为 (10.43 ± 0.83) $\text{mL}\cdot\text{min}/\mu\text{g}$, 而积雪草苷各脂质

体制剂的清除率则显著下降,只有前者的 3% 左右。各脂质制剂间进行比较,积雪草苷脂质体的 $t_{1/2}$ 较低, D-甘露糖-积雪草苷脂质体的 AUC 值显著高于其余 2 种脂质体 ($P<0.05$)。

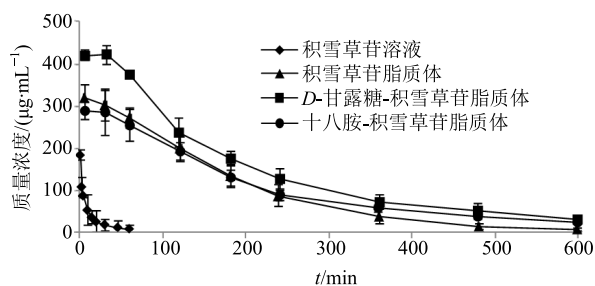


图 4 积雪草苷各制剂的血浆药-时曲线

Fig. 4 Concentration-time profiles of various formulation of asiaticoside in plasma after injection

表 2 积雪草苷各制剂的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Pharmacokinetic parameters of various of asiaticoside after iv administration in rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

样品	$t_{1/2}/\text{min}$	$CL/(\text{mL} \cdot \text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1})$	$AUC/(\text{min} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	MRT/min
积雪草苷溶液	14.52 ± 0.56	10.43 ± 0.83	$1\ 929.70 \pm 159.00$	20.95 ± 0.80
积雪草苷脂质体	101.35 ± 12.47	0.36 ± 0.05	$57\ 004.35 \pm 8\ 710.89$	146.22 ± 17.98
D-甘露糖-积雪草苷脂质体	149.82 ± 20.00	0.22 ± 0.03	$93\ 736.52 \pm 12\ 710.76$	216.14 ± 28.85
十八胺-积雪草苷脂质体	159.58 ± 16.46	0.31 ± 0.03	$64\ 737.48 \pm 6\ 365.28$	230.23 ± 23.75

表 3 积雪草苷各制剂在不同组织中的分布 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Concentration of asiaticoside in tissues after iv administration ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

样品	质量分数/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$			
	肺	脾	肾	肝
积雪草苷溶液	4.94 ± 0.94	2.81 ± 0.60	41.79 ± 9.99	18.77 ± 4.67
积雪草苷脂质体	25.52 ± 4.98	424.72 ± 75.81	14.87 ± 2.57	65.80 ± 10.18
D-甘露糖-积雪草苷脂质体	11.68 ± 4.23	462.30 ± 76.97	14.44 ± 1.99	95.43 ± 15.83
十八胺-积雪草苷脂质体	39.12 ± 12.04	402.37 ± 33.55	10.27 ± 1.34	40.76 ± 10.63

升高。尤其是加入十八胺制得的荷正电的阳离子脂质体，在肺部的浓度是积雪草苷溶液的 7.94 倍。同时，各脂质体制剂在脾部的蓄积度都很高；经 D-甘露糖修饰后的脂质体产生一定肝部的靶向性；各脂质体制剂在脾脏、肾脏处的浓度无显著性差异。

3 讨论

3.1 测定时间的选择

根据预试验及相关参考文献方法^[12]，对 SD 大鼠经尾 iv 20 mg/kg 的积雪草苷溶液后，在 1 h 后已基本在血液中消除，同样为 20 mg/kg 的给药量，积雪草苷各脂质体制剂则在 10 h 后在血液中还维持在一定浓度，同时在各组织脏器中也有一定蓄积，因此将取血的实验时间分别设定为 1 h 及 10 h，同时将组织分布也设为同样的时间点。

3.2 脂质体减轻积雪草苷的刺激性

积雪草苷是一种三萜皂苷，直接注射会产生溶

2.4 组织分布研究

待“2.3”中各大鼠取至最后 1 个采血点后，立即断颈处死，摘取肺、脾、肾、肝，0.9% NaCl 溶液洗净，滤纸吸干，各脏器取约 0.3 g 后称质量，-80 ℃ 冷冻待用。将所得脏器剪碎后，加二倍量生理盐水，研磨成组织匀浆，4 000 r/min 离心 2 min 后，取上清，其余操作同血浆样品的处理，经 HPLC 检测得到积雪草苷在各组织中的浓度，结果见表 3。

由结果可知，将积雪草苷制成脂质体制剂后，与溶液相比，其在肺部、脾部和肝脏处的浓度明显

血，使大鼠产生疼痛感，也有研究表明其具有一定的细胞毒性^[13]，注射给药时其溶血作用和细胞毒性均可能引起大鼠的不适。本实验中也观察到，在注射积雪草苷溶液时，大鼠会产生抽搐。而注射脂质体后则无此现象产生，说明将积雪草苷制成脂质体后可以减轻其注射的刺激性。三萜皂苷引起溶血的机制，是与红细胞细胞膜中的胆固醇相结合，从而引起细胞破裂^[14]，脂质体膜材的主要成分之一即为胆固醇，积雪草苷在制备过程中可与胆固醇直接结合，从而减轻其毒副作用。确切的对于细胞毒性的作用有待于进一步的研究。

3.3 脂质体对积雪草苷组织分布的改变

实验结果表明，制备成脂质体制剂后，积雪草苷在体内的消除明显减慢，同时产生了一定的肺部靶向性。据报道，D-甘露糖可与肺泡表面特异性蛋白结合；而十八胺则可改变脂质体表面电荷，使脂

质体趋向于肺部聚集^[15]。本研究采用这二者对脂质体进行修饰后,发现D-甘露糖的添加反而使脂质体的肺部靶向性降低,而加入十八胺,使脂质体荷正电后,增强了肺部的靶向性。

国外鲜有关于使用D-甘露糖制备肺靶向脂质体的报道,而在国内,宋金春等^[16]采用D-甘露糖修饰脂质体后未进行组织分布研究,曾俊芬等^[17]使用十八胺与D-甘露糖同时对脂质体进行修饰,但未分别进行研究,而本研究结果提示D-甘露糖的修饰对提高脂质体肺部靶向性的作用有待商榷。

积雪草苷脂质体制剂在脾部的分布很高,推测是被巨噬细胞等吞噬造成的^[18]。普朗尼克或聚山梨酯80的外壳具有较强的亲水性,同时分子构型的空间位阻较大,可避免肝、脾等器官的网状内皮细胞对脂质体的吞噬,延长药物的在体循环时间^[19],可以对脂质体采用上述修饰剂进一步进行修饰,从而改善其在组织中的分布。

参考文献

- [1] 任翔,魏仔龙,陈莉,等. 积雪草有效成分的制剂工艺研究进展[J]. 武警后勤学院学报:医学版, 2016, 25(6): 496-500.
- [2] 章卓,万敬员,罗福玲,等. 积雪草苷对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的影响[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1196-1199.
- [3] 王毅. 积雪草苷类化合物对神经系统药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2016, 39(1): 136-142.
- [4] 李洪忠,万敬员,张力,等. 羟基积雪草苷对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中草药, 2008, 39(10): 1483-1486.
- [5] Ye W J, Zhu X C, Wang X B, *et al.* Asiaticoside attenuates bleomycin-induced interstitial pulmonary fibrosis [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2016, 30(1): 29-37.
- [6] 丁元,张翥,王锁刚. 积雪草苷的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 697-699.
- [7] 邵悦. 吉非替尼肺靶向包合物脂质体的制备与评价[D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.
- [8] 黄雨婷,顾杰,姚仲青,等. 甘草素注射液制备工艺研究[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(4): 289-292.
- [9] 任翔,刘琨,张莉. 星点设计-响应面法优化积雪草苷阳离子脂质体的处方[J]. 中国药房, 2016, 27(16): 2272-2275.
- [10] 康安,钱静,单进军,等. 人参总皂苷主要成分大鼠体内药动学研究[J]. 中草药, 2015, 46(20): 3045-3050.
- [11] Cai L, Xu G, Shi C, *et al.* Telodendrimer nanocarrier for co-delivery of paclitaxel and cisplatin: A synergistic combination nanotherapy for ovarian cancer treatment [J]. *Biomaterials*, 2015, 37: 456-468.
- [12] 朱丽莎. 积雪草苷在大鼠体内的药代动力学研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2010.
- [13] Alsaeedi F J. Study of the cytotoxicity of asiaticoside on rats and tumour cells [J]. *Bmc Cancer*, 2014, 14(1): 1-13.
- [14] Kim C K, Kim J H, Park K M, *et al.* Preparation and evaluation of a titrated extract of *Centella asiatica* injection in the form of an extemporaneous micellar solution [J]. *Int J Pharm*, 1997, 146(1): 63-70.
- [15] Hattori Y, Nakamura A, Arai S, *et al.* siRNA delivery to lung-metastasized tumor by systemic injection with cationic liposomes [J]. *J Liposome Res*, 2015, 25(4): 279-286.
- [16] 宋金春,黄岭,陈佳丽. 肺靶向羟基喜树碱脂质体的制备及体外释药性质研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(20): 1564-1568.
- [17] 曾俊芬,黄岭,鲁建武,等. 肺靶向羟基喜树碱脂质体的制备及其在小鼠体内的组织分布研究[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(16): 1374-1379.
- [18] Higuchi Y, Nishikawa M, Kawakami S, *et al.* Uptake characteristics of mannosylated and fucosylated bovine serum albumin in primary cultured rat sinusoidal endothelial cells and Kupffer cells [J]. *Int J Pharm*, 2004, 287(1/2): 147-154.
- [19] Wang D K, Zhang C X, Zhang W T, *et al.* Characteristics and pharmacokinetics of docetaxel liposome containing Tween 80 or PEG-DSPE [J]. *J Drug Del Sci Tech*, 2008, 18(4): 253-257.