

积雪草酸自组装胶束的构建及其大鼠体内药动学研究

尹丽娜¹, 张雅雯¹, 周云琍², 陈晓晓², 郑高利^{1*}

1. 浙江省医学科学院, 浙江 杭州 310013

2. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: 目的 以两亲性材料壳聚糖-去氧胆酸聚合物为载体制备积雪草酸(AA)自组装胶束(AA-CS-DCA PMs), 并研究胶束在大鼠体内的药动学特点。方法 采用超声分散法构建 AA-CS-DCA PMs, 采用包封率、载药量、粒径、Zeta 电位等指标对胶束进行表征, 通过体外释放考察胶束的释药特性。进一步建立清醒大鼠胆汁引流模型, 采用柱前衍生化 HPLC 方法测定胆汁中药物质量浓度, 并通过达峰时间($t_{\max}$)、峰浓度($C_{\max}$)、药物排泄速率-时间曲线下面积(AUC_{0-t})评价口服胶束的体内药动学特点。结果 所构建的载药胶束粒径为(70.5 ± 9.8) nm, Zeta 电位为(38.4 ± 0.8) mV; 药物 AA 包封率为(77.8 ± 1.2)%, 载药量达到(11.7 ± 0.2)%; 体外释放试验中, 药物没有明显的突释现象, 具有缓释特征。载药胶束经胆汁排泄的 $C_{\max}$ (26.05 ± 3.04) $\mu\text{g/h}$ 是对照组(原料药) (9.19 ± 1.12) $\mu\text{g/h}$ 的 2.8 倍, $t_{\max}$ 显著延长(2 h vs 1 h), 体内消除明显减慢, 其消除半衰期 $t_{1/2}$ (2.68 ± 1.71) h 是对照组 (1.49 ± 0.38) h 的 1.8 倍。反映药物吸收程度的生物利用度 AUC_{0-t} , 与对照组相比提高了 200% [(99.05 ± 12.83) μg vs (33.56 ± 8.33) μg]。结论 AA 经自组装胶束包封后, 体内药物水平明显提高, 作用时间延长, 极大提高了 AA 的口服生物利用度。

关键词: 积雪草酸; 壳聚糖-去氧胆酸聚合物; 自组装胶束; 胆汁引流; 体内药动学; 超声分散法; 体外释放; 释药特性; 生物利用度

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)23-4891-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.23.012

Preparation and pharmacokinetic study of asiatic acid loaded chitosan-deoxycholic acid polymeric micelles in rats

YIN Li-na¹, ZHANG Ya-wen¹, ZHOU Yun-li², CHEN Xiao-xiao², ZHENG Gao-li¹

1. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China

2. Department of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To prepare asiatic acid (AA) loaded chitosan-deoxycholic acid self-assembled micelles (AA-CS-DCA PMs) adopting chitosan-deoxycholic acid (CS-DCA) as carriers and investigate its pharmacokinetic characteristics in rats. **Methods** AA-CS-DCA PMs were prepared by ultrasonic dispersion method. The characteristics of micelles were evaluated by the distribution of particle size, Zeta potential, drug loading, encapsulation efficiency, and *in vitro* release. Model of bile drainage was established in conscious rats and pre-column derivatization HPLC method was used to determine the concentration of AA in bile. Moreover, the pharmacokinetics characteristics of AA-CS-DCA PMs *in vivo* was evaluated by $t_{\max}$, $C_{\max}$ and AUC_{0-t} . **Results** The particle size was (70.5 ± 9.8) nm, the Zeta potential was (38.4 ± 0.8) mV, and encapsulation efficiency and drug loading were (77.8 ± 1.2)% and (11.7 ± 0.2)%, respectively. The *in vitro* release profile showed a sustained release property. *In vivo* study showed that $C_{\max}$ of AA-CS-DCA group (26.05 ± 3.04) $\mu\text{g/h}$ was 2.8 times higher than that of the control group (9.19 ± 1.12) $\mu\text{g/h}$; The $t_{\max}$ of AA-CS-DCA PMs group prolonged significantly ($P < 0.05$) in biliary excretion (2 h vs 1 h) and the elimination half-life $t_{1/2}$ was 1.8 times of the control group [(2.68 ± 1.71) h vs (1.49 ± 0.38) h]. In addition, the $AUC_{0-24\text{ h}}$ which reflected the degree of drug absorption increased by 200% compared with the control group [(99.05 ± 12.83) μg vs (33.56 ± 8.33) μg]. **Conclusion** The chitosan- deoxycholic acid self-assembled micelles can raise the concentration of AA and prolong the retention time *in vivo*, which effectively improve the oral bioavailability of AA.

收稿日期: 2017-07-14

作者简介: 尹丽娜, 女, 助理研究员, 研究方向为纳米制剂及其体内代谢。Tel: (0571)88215622 E-mail: yln23@163.com

*通信作者 郑高利, 研究员, 教授, 研究方向为药理学应用基础研究、新药筛选和新药有效性评价。Tel: (0571)88215620 E-mail: gaoli-z@163.com

Key words: asiatic acid; chitosan-deoxycholic acid; self-assembled micelles; bile drainage model; pharmacokinetics characteristics; ultrasonic dispersion method; *in vitro* release; drug release characteristics; bioavailability

积雪草酸 (asiatic acid, AA) 为积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 在体内起作用的主要物质基础, 可有效促进局部胶原蛋白的合成和代谢, 预防瘢痕增生, 修复损伤组织以及抗肝、肾纤维化等作用, 一般临床需长期口服给药^[1-4]。AA 是一种具有多功能生物活性的乌苏烷型五环三萜酸, 难溶于水, 口服给药胃肠道吸收差, 体内消除较快^[5], 生物利用度极低: 100 mg/kg 大鼠 ig, 峰浓度 ($C_{\max}$) 约为 14 ng/mL^[6]; Beagle 犬口服 AA 390 mg, $C_{\max}$ 约为 0.74 $\mu\text{g/mL}$ ^[7]; 人口服 AA (12 mg) 后, $C_{\max}$ 仅为 0.098 $\mu\text{g/mL}$, 0~12 h 曲线下面积 ($\text{AUC}_{0-12\text{h}}$) 为 $(0.61 \pm 0.25) \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ^[8]。

药物的口服生物利用度低往往跟药物的溶解性能差、胃肠道药物代谢酶破坏^[9]及肝脏首关效应等因素有关^[10], 采用新型微粒给药系统是改善难溶性药物口服吸收的常用方法, 如纳米脂质体^[11]、固体脂质纳米粒^[12]和聚合物胶束等^[13], 其中脂质体和脂质纳米粒均存在突释、释放不完全或较难透过胃肠壁亲水黏液层等问题。

自组装胶束给药系统 (self-assembly micelle delivery system) 是近年来研究十分活跃的药物传递系统, 由两亲性的聚合物在水中自组装而成, 具有亲水性的外壳及疏水性的内核^[14], 其作为药物的载体, 具有以下优点^[15]: 1) 其亲水性的外壳可以有效透过胃肠壁亲水黏液层, 并为胶束的进一步修饰提供有效的功能基团, 为药物的智能转运提供条件; 2) 疏水性内核能包载难溶性、蛋白多肽类等药物, 具有较高的载药量及防止药物在体内被破坏的作用; 3) 胶束的纳米结构特点加上外壳的亲水基团使得其具有选择渗透效应, 而对炎症组织和肿瘤组织具有靶向性。壳聚糖-去氧胆酸聚合物 (CS-DCA) 是在壳聚糖活性氨基或羟基上进行接枝得到的两亲性材料, 具有缓释、保护药物活性、提高生物利用度等作用^[16-17]。

本研究采用壳聚糖-去氧胆酸聚合物作为载体, 制备 AA 自组装载药胶束 (AA loaded chitosan-deoxycholic acid polymeric micelles, AA-CS-DCA PMs), 并对胶束的物理特性进行表征, 进一步通过清醒大鼠胆汁引流模型的建立^[18-21], 评价载药胶束经 SD 大鼠口服给药后的促吸收作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-10AT VP 高效液相色谱仪 (双泵)、SPD-10A VP 紫外检测器, 日本 Shimadzu 公司; Anke TGL-16C 离心机, 上海安亭科学仪器厂; Zetasizer Nano-ZS90 粒径电位测定仪, 英国 Malvern 公司; LGJ-10D 冷冻干燥机, 北京四环科学仪器厂有限公司; 透析袋, 截留相对分子质量 3 500, 武汉鑫思锐科技有限公司; JY92-2D 细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; AL104 电子天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; XK96-A 快速混匀器, 江苏省姜堰市康泰医疗器械厂; PKS 1.0 药物统计软件, 上海宏能软件有限公司。

1.2 试药

CS-DCA, 实验室自制, 批号 140921; AA, 质量分数 >99.0%, 批号 20080625, 广西昌洲天然产物开发有限公司; 甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA), 内标, 质量分数 >99.0%, 批号 200600509, 上海晨易生物科技有限公司; 硫酸酯酶 (来源: 罗马蜗牛, 22 000 U/g)、葡醛酸酶 (来源: 牛肝, 10 100 U/mg), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 对甲苯胺 (P-aminotoluene), 中国上海亭新化工试剂厂, 分析纯; 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳酰亚胺盐酸盐 (EDC·HCl), 上海共价化学科技有限公司; 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠, 体质量 $(200 \pm 20) \text{g}$, 由浙江省实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (浙) 2008 0033。

2 方法与结果

2.1 AA-CS-DCA PMs 的制备

称取 CS-DCA 适量, 加适量去离子水溶解。按一定比例的投药量加入药物甲醇溶液, 探头超声 (工作 2 s, 停顿 3 s, 400 W, 3 min), 旋转蒸发除去甲醇, 10 000 r/min 离心 30 min, 取上清液冷冻干燥即得 AA-CS-DCA PMs。

2.2 粒径及表面电位的测定

通过马尔文粒径电位测定仪测得 AA-CS-DCA PMs 在水中粒径为 $(70.5 \pm 9.8) \text{nm}$, 多分散系数 (PDI) 为 0.21 ± 0.02 , AA-CS-DCA PMs 的电位为

(38.4±0.8) mV, 体系处于稳定状态。

2.3 AA-CS-DCA PMs 包封率和载药量测定

2.3.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾 (40:40:20); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 210 nm; 进样量 20 μL。

2.3.2 包封率和载药量的测定 精密称取载药胶束冻干产物适量 (约相当于含药物量 2 mg) 至 10 mL 量瓶, 加水溶解, 混匀, 得载体质量浓度为 2 mg/mL 的胶束溶液, 精密移取该胶束溶液 1 mL 至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至近刻度, 超声 30 min, 甲醇定容至刻度, 滤过, 按“2.3.1”项下方法测定载药胶束中 AA 的质量浓度。分别按载体质量的 5%、10%、15%、20% (W_{AA}/W_{CS-DCA}) 加入 AA 甲醇溶液后制备得到 AA-CS-DCA PMs, 按下述公式计算得到载药胶束的包封率和载药量, 见表 1。结果显示当投药量为 15% 时, 制备得到的胶束包封率和载药量较高, 分别为 (77.8±1.2)% 和 (11.7±0.2)%。随着投药量的逐渐增加, 载药量明显增加, 但相比 15% 的投药量, 按载体质量的 20% 投药时载药量并未相应增加, 而药物包封率却明显降低。

$$\text{载药量} = W_0/W$$

$$\text{包封率} = W_0/W_1$$

W_0 为包封在胶束中 AA 的质量, W 为 AA-CS-DCA PMs 的质量, W_1 为体系中加入的 AA 的质量

表 1 不同投药量制备的 AA-CS-DCA PMs 的包封率和载药量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Entrapment efficiency and drug loading of AA CS-DCA PMs with different amount of AA ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

投料量/%	包封率/%	载药量/%
5	81.3±0.8	4.0±0.1
10	78.8±0.8	7.4±0.1
15	77.8±1.2	11.7±0.2
20	61.6±1.4	11.3±0.4

2.4 AA-CS-DCA PMs 的体外释放试验

取 AA-CS-DCA PMs 溶液 (约 0.6 mg 药物) 和含等质量 AA 的溶液置于透析袋中 (截留相对分子质量 3 500), 封口后投入装有 18 mL PBS (pH 7.4, 含 1% SDS) 释放介质中, 37 ℃、100 r/min 恒温振荡。分别于 1、2、4、6、8、12、24、48、72、96、120、168 h 取出全部释放介质, 并即时补充相同体积新鲜释放介质。按“2.3.1”项下方法测定 AA 质

量浓度, 并以时间为横坐标, AA 的累积释放率为纵坐标作图, 得到释放曲线 (图 1), 由图可见, 在前 4 h 内, AA 原料共释放 (52.2±1.8)%, 表现出突释效应, 而药物从胶束的释放较为缓慢, 48 h 内累积释放率为 (54.2±0.8)%, 因此 AA-CS-DCA PMs 较原料具有缓释的特性。

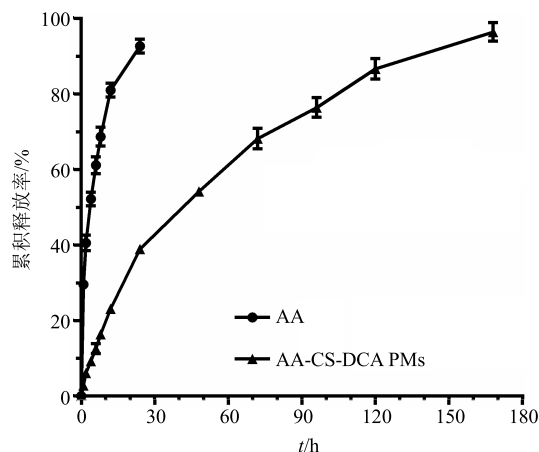


图 1 AA-CS-DCA PMs 和 AA 原料体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 1 In vitro release profile of AA-CS-DCA PMs and AA ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

2.5 AA-CS-DCA PMs 大鼠口服吸收评价

2.5.1 标准溶液的配制 分别精密称取 AA 和 GA 50 mg, 各置 50 mL 量瓶, 用甲醇溶解并定容, 得 AA 和 GA 贮备液 (各 1 mg/mL)。4 ℃ 保存, 3 个月稳定。

精密移取 GA 贮备液 1 mL 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀得 40 μg/mL 的 GA 溶液。分别精密移取 AA 贮备液适量和上述 GA 溶液 25 μL 置干燥试管中, 氮气吹干, 残渣用 50 μL 空白胆汁混匀, 按“2.5.5”项下处理, 最终制成 AA 质量浓度为 0.75、2.0、4.0、16.0、30.0、60.0 μg/mL 的系列溶液。同法制备质控样品 (2.0、4.0、16.0、30.0 μg/mL)。

2.5.2 色谱条件 参考实验室已建立的方法并略作调整^[3]: 色谱柱为 Diamonsil C₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm, Dikma); 流动相为甲醇-乙腈 (1:1)-水, 梯度洗脱: 0~10 min, 25%水; 10~25 min, 11~25%水; 25~28 min, 25%水; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 检测波长 248 nm; 进样量 20 μL。

2.5.3 方法学考察 通过优化色谱条件, 消除了内源性杂质的干扰, 使 AA 出峰在 10 min 左右, GA (内标, IS) 在 18 min 左右, 空白胆汁中的内源性杂质对 AA 衍生物和内标均无干扰, 显示良好的专

属性。以 AA 与 IS 的峰高比值 (Y) 对 AA 质量浓度 (X) 进行线性回归, 得线性回归方程 $Y=0.0321X-0.0189$, $r=0.9998$, 结果显示 AA 在 $0.75\sim 60.0\ \mu\text{g/mL}$ 线性关系良好; 方法的定量下限 (LLOQ) 为 $(0.75\pm 0.03)\ \mu\text{g/mL}$ (RSD 为 4.64%, $n=5$)。方法的日内、日间精密度 RSD 均小于 5%, 方法回收率在 101.8%~107.8%, 通过比较相应浓度原料衍生化样品 (纯溶剂样品) 的峰高计算提取回收率, 其中药物的提取回收率在 85.3%~96.9%, 内标提取回收率为 $(90.0\pm 3.3)\%$ 。

2.5.4 清醒大鼠胆汁引流模型的制备 取健康雄性 SD 大鼠 10 只, 随机分成 2 组, 每组 5 只, 实验前禁食 24 h, 自由饮水。参考文献方法^[22]: 戊巴比妥钠麻醉, 四肢固定, 沿腹中线打开腹腔, 胆总管插管, 并结扎固定, 缝合创口, 采集空白胆汁, 待动物清醒后以 $12.5\ \text{mg/kg}$ 的剂量分别 ig 给予 AA-CS-DCA PMs (药物质量浓度约为 $1\ \text{mg/mL}$) 和 AA 原料 (以 0.5% CMC-Na 配制成混悬液, 药物质量浓度约为 $1\ \text{mg/mL}$, 作为对照组), 于给药后 0~1、1~2、2~3、3~4、4~5、5~6、6~8、8~10、10~12、12~24 h 采集胆汁, $-80\ ^\circ\text{C}$ 冰箱冻存至测定。

2.5.5 胆汁样品处理 精密移取 GA 溶液 (IS) $25\ \mu\text{L}$ 至干燥 EP 管中, 氮气吹干, 残渣用 $50\ \mu\text{L}$ 胆汁样品混合均匀, $0.02\ \text{mol/L}$ 的醋酸调节 pH 值至 5 左右, 涡旋 30 s, 加入硫酸酯酶 ($0.11\ \text{U}/\mu\text{L}$) 和葡醛酸酶 ($2.5\ \text{U}/\mu\text{L}$) 各 $10\ \mu\text{L}$, 混匀, $37\ ^\circ\text{C}$ 水浴条件下酶解 24 h 后, 立即取出离心 ($12\ 000\ \text{r/min}$, 5 min); 上清液加入甲基叔丁基醚 $1\ \text{mL}$ 提取, 涡旋 5 min, $12\ 000\ \text{r/min}$ 离心 5 min, 上清液转移至干燥玻璃试管中, 氮气吹干, 残渣加入 EDC·HCl 溶液和对甲苯胺溶液适量, 混合液涡旋 5 min, $30\ ^\circ\text{C}$ 水浴避光反应 3 h, 氮气吹干, 残余物用 $100\ \mu\text{L}$ 流动相 [甲醇-乙腈-水 ($37.5:37.5:25$)] 溶解, 涡旋混合, $12\ 000\ \text{r/min}$ 离心 5 min, 按“2.5.2”项下方法测定 AA 质量浓度。

2.5.6 药动学数据分析 利用药物统计软件 PKs 1.0 计算药动学参数。峰浓度 (C_{max}) 和达峰时间 (t_{max}) 为实测值; 药物排泄速率-时间曲线下面积 ($\text{AUC}_{0-24\ \text{h}}$) 则通过梯形法计算得到。

根据不同时间段排泄胆汁的体积及胆汁中 AA 的量, 绘制胆汁中 AA 排泄速率-时间曲线 (图 2)。由图 2 可见, AA-CS-DCA PMs 组药物经胆汁排泄的 t_{max} 在 2 h, 慢于原料对照组 1 h; AA-CS-DCA

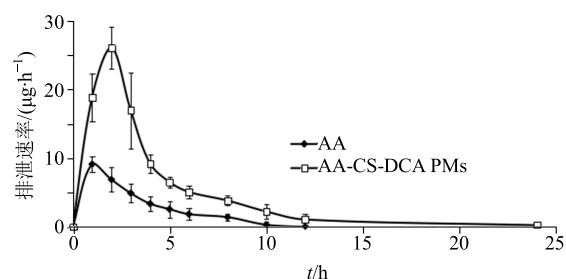


图 2 大鼠口服 AA 和 AA-CS-DCA PMs 后 ($12.5\ \text{mg/kg}$) 胆汁中药物排泄速率-时间曲线 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Fig. 2 Biliary excretion of asiatic acid after oral administration AA and AA-CS-DCA PMs at a dose of $12.5\ \text{mg/kg}$ to rats ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

PMs 组药物排泄峰值 C_{max} (26.05 ± 3.04) $\mu\text{g/h}$ 是原料对照组 (9.19 ± 1.12) $\mu\text{g/h}$ 的 2.8 倍; 另外, AA-CS-DCA PMs 的消除时间明显延长, 其消除半衰期 $t_{1/2}$ (2.68 ± 1.71) h 是对照组 (1.49 ± 0.38) h 的 1.8 倍, 提示 AA 经自组装胶束制剂化后, 体内药物水平有了明显提高, 而且作用时间延长。反映药物吸收程度的指标 $\text{AUC}_{0-24\ \text{h}}$, 载药胶束是原料对照组的 3 倍 [$(99.05\pm 12.83)\ \mu\text{g}$ vs $(33.56\pm 8.33)\ \mu\text{g}$], 显示 AA-CS-DCA PMs 相比 AA 原料有更好的口服吸收, 生物利用度明显提高。

3 讨论

两亲性材料是形成自组装胶束的关键, 壳聚糖是一种天然药物载体材料, 具有良好的生物相容性和生物可降解性^[23], 在医药相关领域具有广泛的应用价值, 在其活性氨基或羟基上进行接枝得到的两亲性壳聚糖, 可作为难溶性药物的载体, 产生缓释、保护药物活性、提高生物利用度等作用^[16-17], 另壳聚糖具有类口服吸收促进剂的作用, 因其具有一定的生物黏附性, 能增加药物与肠道壁的接触时间, 从而促进药物透过上皮黏膜细胞^[24], 增加吸收, 经修饰后的壳聚糖既继承了原来的优势, 又具备独特的亲水亲油结构特点, 从而能更好起到促进药物吸收的作用。

CS-DCA 在水中自组装成胶束后, 具备了疏水性内核和亲水性外壳, 疏水性药物能进入该疏水内核, 且通过疏水性药物的介导, 增加了 CS-DCA 分子通过疏水性作用力聚集成胶束聚集体的行为, 粒径较未载药胶束有一定的增大, Zeta 电位相应减小, 但绝对值仍大于 $30\ \text{mV}$, 此时纳米粒之间能产生较大的排斥力, 阻止粒子聚集而使溶液处于稳定状态。

AA 吸收进入体内后, 血药浓度较低^[5-6], 且 AA

最大吸收波长在近紫外区, HPLC 法检测血中 AA 量时干扰较大^[8,25], 另外, 据有关文献报道^[26]其代谢产物葡醛酸结合物和硫酸酯结合物主要从胆汁排泄, 根据这一特点, 建立清醒大鼠胆汁引流模型能真实反映 AA 的体内吸收特性。

AA-CS-DCA PMs 和 AA 原料对照组分别经大鼠 ig 给药, 收集不同时间段的胆汁。经酶解、液液提取富集和柱前衍生化的方法得到 AA 衍生物, 并用已知质量浓度的 AA 标准溶液加入空白胆汁后与样品同处理, 得到质控样品作为标准溶液, 并用 HPLC 方法检测不同时间段胆汁中的药物总质量浓度。大鼠体内药动学实验结果提示, AA-CS-DCA PMs 的 AUC_{0-t} 值是 AA 原料的 3 倍, 提示经胶束制剂化后, 难溶性、低生物利用度的 AA 口服生物利用度有明显提高, 而且作用时间更长。疏水性药物 AA 包裹在胶束的疏水性内核后, 药物的亲水性提高, 有利于与肠道亲水黏液层的接触, 促进药物的渗透与吸收。

AA-CS-DCA PMs 被小肠 M 细胞摄取经淋巴通道吸收进入体循环, 也是提高其生物利用度的原因之一。另外, 药动学实验中, 在给药剂量为 12.5 mg/kg 时, AA 原料的存在形式是混悬液, 低溶解度很大程度上影响 AA 的直接应用, 而 AA-CS-DCA PMs 以胶体溶液的形式分散, 药物包裹在胶束的疏水性内核中, 易透过亲水黏液层, 增加肠道吸附, 另外还可能以纳米的形式通过胃肠壁细胞旁路通道或在肠道直接被小肠 M 细胞摄取经淋巴通道吸收进入体循环从而达到整体吸收, 因而 AA-CS-DCA PMs 具有更高的生物利用度。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 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.
- [3] 冯霞, 张雅雯, 梁泽华, 等. 积雪草酸的大鼠在体肠吸收动力学研究 [J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(6): 628-632.
- [4] 王策. 积雪草苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(2): 151-155.
- [5] 张雅雯, 尹丽娜, 梁泽华, 等. 积雪草酸大鼠体内药动学考察 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(3): 314-317.
- [6] Shen C Y, Gu X C, Wang G Q, et al. Determination of asiatic acid in rat plasma by GC/MS [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2006, 27(3): 155-159.
- [7] Zheng X C, Wang S H. Determination of asiatic acid in beagle dog plasma after oral administration of *Centella asiatica* extract by precolumn derivatization RP-HPLC [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877(5/6): 477-481.
- [8] Grimaldi R, De Ponti F, D'Angelo L, et al. Pharmacokinetics of the total triterpenic fraction of *Centella asiatica* after single and multiple administrations to healthy volunteers. A new assay for asiatic acid [J]. *J Ethnopharmacol*, 1990, 28(2): 235-241.
- [9] Aburahma M H. Bile salts-containing vesicles: Promising pharmaceutical carriers for oral delivery of poorly water-soluble drugs and peptide/protein-based therapeutics or vaccines [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(6): 1847-1867.
- [10] Lai Y J, Zeng S, Wang S H. Study on the ADME of the bioactive constituents in *Centella asiatica* and the strategy for the improvement of their oral bioavailability [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2013, 30(7): 805-808.
- [11] 阙慧卿, 陈洪, 彭华毅, 等. 雷公藤内酯醇纳米脂质体涂膜剂制备研究 [J]. 中草药, 2016, 47(20): 3626-3631.
- [12] 谭梅娥, 姜雯, 曾诚, 等. 田菊苷固体脂质纳米粒的优化及其在 Caco-2 细胞模型中的吸收和转运研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2051-2060.
- [13] 陈静怡, 任翔, 王晓辉, 等. 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 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4419-4424.
- [14] Hubbell J A, Chilkoti A. Nanomaterials for drug delivery [J]. *Science*, 2012, 337(6092): 303-305.
- [15] 游倩倩, 张怀敏, 李丹, 等. 两亲性嵌段共聚物的自组装及载药胶束的研究 [J]. 高分子通报, 2013, 6: 51-56.
- [16] 张秀荣, 关皎, 赵阳, 等. 丝裂霉素两亲性壳聚糖聚合物胶束大鼠体内药动学及组织分布 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(18): 1569-1573.
- [17] 余敬谋, 李永杰, 王成润, 等. 聚乙二醇壳聚糖-胆固醇接枝物载多柔比星自聚集纳米粒的制备及其大鼠体内药动学研究 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(4): 277-282.
- [18] Leng D D, Han W J, Rui Y, et al. In vivo disposition and metabolism of madecassoside, a major bioactive constituent in *Centella asiatica* (L.) Urb [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(2): 601-608.
- [19] Marier J F, Vachon P, Gritsas A, et al. Metabolism and disposition of resveratrol in rats: extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 302(1): 369-373.
- [20] Rodríguez-Ortigosa C M, Banales J M, Olivas I, et al. Biliary secretion of S-nitroso glutathione is involved in the hyperchloresis induced by ursodeoxycholic acid in

- the normal rat [J]. *Hepatology*, 2010, 52(2): 667-677.
- [21] Zong L, Qu Y, Luo D X, *et al*. Preliminary experimental research on the mechanism of liver bile secretion stimulated by peppermint oil [J]. *J Dig Dis*, 2011, 12(4): 295-301.
- [22] 黄夏樱, 张雅雯, 尹丽娜, 等. 积雪草酸脂质纳米粒的大鼠口服吸收研究 [J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(4): 444-448.
- [23] Agnihotri S A, Mallikarjuna N N, Aminabhavi T M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery [J]. *J Control Release*, 2004, 100(1): 5-28.
- [24] 康 安, 梁 艳, 郝海平, 等. 新型促吸收剂研究进展—以细胞间紧密连接为靶点 [J]. 药学报, 2007, 42(11): 1122-1128.
- [25] Rafamantanana M H, Rozet E, Raoelison G E, *et al*. An improved HPLC-UV method for the simultaneous quantification of triterpenic glycosides and aglycones in leaves of *Centella asiatica* (L.) Urb (APIACEAE) [J]. *J Chro B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(23): 2396-2402.
- [26] Lai S K, Wang Y Y, Hanes J. Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61(2): 158-171.