

[制剂]

藤茶总黄酮固体脂质纳米粒抗肝癌活性及其药动学研究

杨毛毛¹, 罗花彩², 徐伟¹, 林珠灿^{1*}, 郭素华¹, 沙玫^{1*}

(1. 福建中医药大学药学院, 福建福州 350122; 2. 福建中医药大学附属人民医院, 福建福州 350004)

摘要: **目的** 评价藤茶总黄酮固体脂质纳米粒抗肝癌活性, 并考察其药动学。**方法** MTT法检测固体脂质纳米粒对 HepG2 细胞, 以及 H₂₂ 荷瘤小鼠肿瘤、体质量、免疫器官的影响。大鼠灌胃给药 (150 mg/kg) 后于 0.167、0.33、0.5、0.667、1、2、3、4、6、8、12、24 h 采血, LC-MS/MS 法测定二氢杨梅素血药浓度, 计算主要药动学参数。**结果** 在 24、48、72 h, 固体脂质纳米粒对 HepG2 细胞的 IC₅₀ 值分别为 68.63、39.99、32.91 μg/mL, 低于原料药, 并呈浓度依赖性。在 0.6、2.4 g/kg 剂量下, 固体脂质纳米粒对 H₂₂ 荷瘤小鼠的抑瘤率分别为 72.22%、59.93%, 高于原料药, 其 C_{max}、T_{max}、t_{1/2}、AUC_{0-24 h}、AUC_{0-∞} 分别是后者的 1.76、1.94、2.03、2.80、2.49 倍。**结论** 固体脂质纳米粒可提高藤茶总黄酮抗小鼠肝癌活性, 并促进其在大鼠体内的口服吸收和生物利用度。

关键词: 藤茶总黄酮; 固体脂质纳米粒; 抗肝癌活性; 药动学; LC-MS/MS

中图分类号: R285.5; R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)09-2249-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.001

Anti-hepatoma activity and pharmacokinetics of *Ampelopsis grossedentata* total flavonoids-loaded solid lipid nanoparticles

YANG Mao-mao¹, LUO Hua-cai², XU Wei¹, LIN Zhu-can^{1*}, GUO Su-hua¹, SHA Mei^{1*}

(1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. The People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350004, China)

ABSTRACT: AIM To evaluate the anti-hepatoma activity of *Ampelopsis grossedentata* total flavonoids-loaded solid lipid nanoparticles and to investigate their pharmacokinetics. **METHODS** MTT assay was applied to detecting the effects of solid lipid nanoparticles on HepG2 cells, and tumor, body weight and immune organs in H₂₂ tumor-bearing mice. Rats were given intragastric administration (150 mg/kg), after which blood collection was performed at 0.167, 0.33, 0.5, 0.667, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h, LC-MS/MS was adopted in the plasma concentration determination of dihydromyricetin, and main pharmacokinetic parameters were calculated.

RESULTS At 24, 48, 72 h, the IC₅₀ values of solid lipid nanoparticles on HepG2 cells were 68.63, 39.99, 32.91 μg/mL, respectively, which were lower than those of raw medicine in a concentration-dependent manner. At the doses of 0.6, 2.4 g/kg, the tumor inhibitory rates of solid lipid nanoparticles on H₂₂ tumor-bearing mice were 72.22%, 59.93%, respectively, which were higher than those of raw medicine, and the C_{max}, T_{max}, t_{1/2}, AUC_{0-24 h}, AUC_{0-∞} were 1.76, 1.94, 2.03, 2.80, 2.49 times as high as the latter, respectively.

CONCLUSION Solid lipid nanoparticles can enhance the anti-hepatoma activity of *Ampelopsis grossedentata* total flavonoids in mice, and promote their oral absorption and bioavailability in rats *in vivo*.

KEY WORDS: *Ampelopsis grossedentata* total flavonoids; solid lipid nanoparticles; anti-hepatoma activity; pharmacokinetics; LC-MS/MS

收稿日期: 2020-01-22

基金项目: 福建省科技厅引导性项目 (2017Y0048, 2017Y0050)

作者简介: 杨毛毛 (1993—), 女, 硕士生, 从事中药活性成分及质量标准研究。E-mail: 1069513509@qq.com

* 通信作者: 林珠灿 (1980—), 男, 博士, 副教授, 从事中药药效物质基础教学及科研工作。E-mail: linsifanhao@126.com

沙玫 (1963—), 女, 教授, 从事中药现代制剂及质量标准研究。E-mail: 332618602@qq.com

肝癌为常见的恶性肿瘤之一，近年来其发病率呈上升趋势，严重威胁人类健康^[1-2]，但目前市场上的广谱抗肝癌药物往往会对人体免疫力、器官等造成不同程度的损害。前期报道，藤茶所含的黄酮在抗肿瘤方面效果明显，并有潜力开发为抗肝癌辅助药物^[3-6]，但其主要成分二氢杨梅素（占总黄酮含有量的82%以上^[7]）的结构中含3, 5, 7, 3', 4', 5'-六酚羟基，易被氧化，而且体内消除快，口服吸收差，生物利用度低^[8-9]，严重影响体内药效和临床应用，故需通过新型给药系统来改善其稳定性和生物利用度。

固体脂质纳米粒是一种具有比表面积大、无生物毒性、可控释、靶向性良好、能降低不良反应等诸多优势的载药体系^[10-11]，课题组前期已对藤茶总黄酮固体脂质纳米粒制备工艺进行优化^[12]。本实验在此基础上进一步考察该制剂的抗肝癌活性，并对主要成分二氢杨梅素的药动学进行研究，以期对藤茶总黄酮及其新制剂的后续开发及临床应用提供依据。

1 材料

电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; Infinite200 PRO 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); TS100 倒置显微镜 (日本尼康公司); Galaxy 170R 型 CO₂ 培养箱 (瑞轩电子科技上海有限公司); LCMS-8045 岛津液质联用仪 (日本岛津公司)。

藤茶总黄酮提取物及固体脂质纳米粒均为课题组自制 (二氢杨梅素质量浓度为 40.15 mg/mL)。环磷酰胺 (批号 113842, 商品名安道生); 顺铂 (批号 B1210L79601, 铂质量分数 65%); 二氢杨梅素对照品 (批号 160422, 纯度 ≥ 98.0%, 上海源叶生物科技有限公司); 二氢槲皮素对照品 (批号 BA09B006, 纯度 > 98.0%, 成都普思生物科技股份有限公司);

鼠源性肝癌细胞 (H22)、人肝癌细胞 (HepG2) 细胞株均由福建中医药大学药学院陈莉课题组惠赠。清洁级 ICR 雄性小鼠, 体质量 18 ~ 22 g; SD 雄性大鼠, 体质量 (220 ± 20) g, 均购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 动物生产许可证号分别为 SCXK (沪) 2017-0005、SCXK (沪) 2017-0002。

2 方法

2.1 HepG2 细胞增殖抑制率测定 采用 MTT 法^[6,13]。将对数生长期的 HepG2 细胞用 0.25% 胰

蛋白酶消化, 完全培养液 (DMEM 高糖+10% 胎牛血清+1% 双抗) 配成单细胞悬液 (5 × 10⁴/mL) 后接种于 96 孔培养板 (100 μL/孔) 上, 置于 CO₂ 培养箱中, 在 37 °C、5% CO₂ 条件下进行培养。待各孔中细胞完全贴壁后给药, 设置对照组、阳性药 (顺铂) 组 (0.5、1.0、2.5、5.0、25.0、50.0 μg/mL)、藤茶总黄酮组、藤茶总黄酮固体脂质纳米粒组、空白纳米粒组 (5、10、25、50、100、200 μg/mL), 每个质量浓度设 5 个复孔 (150 μL/孔), 继续在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24、48、72 h 后, 每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 10 μL, 置于 CO₂ 培养箱中培养 4 h 后终止, DMSO (100 μL/孔) 溶解紫色结晶。酶标仪检测每孔在 490 nm 波长处的光密度 (OD₄₉₀), 重复 3 次, 取平均值, 计算增殖抑制率, 公式为抑制率 = (1 - 给药组 OD₄₉₀/对照组 OD₄₉₀) × 100%。

2.2 体内抗肝癌活性研究

2.2.1 模型建立 参考文献 [14] 报道。H₂₂ 细胞复苏后在小鼠腹腔中培养, 传 2~3 代后在无菌条件下抽取腹水, 生理盐水洗涤后离心, 重复 3 次, PBS 缓冲液稀释, 0.2% 台盼蓝染色后当活细胞数大于 95% 时, 调整细胞浓度为 5 × 10⁶/mL, 吸取浓度均匀的细胞悬液, 以 0.2 mL/只剂量皮下注射于小鼠右腋下。

2.2.2 分组与给药 称取藤茶总黄酮适量, 加适量蒸馏水加热溶解, 分别制成低剂量 (30 mg/mL)、高剂量 (120 mg/mL) 混悬液; 藤茶总黄酮固体脂质纳米粒冷冻干燥后, 加适量蒸馏水均匀分散, 分别制成低剂量 (30 mg/mL)、高剂量 (120 mg/mL) 混悬液。

70 只小鼠适应性饲养 5 d 后, 随机分为空白组, 模型组, 阳性药组, 藤茶总黄酮固体脂质纳米粒高、低剂量组, 藤茶总黄酮高、低剂量组, 每组 10 只, 除空白组外各组小鼠均于右腋下接种 H₂₂ 细胞造模。根据预实验结果, 阳性药组小鼠腹腔注射 3 mg/kg 环磷酰胺 (0.2 mL/10 g), 空白组、模型组小鼠灌胃给予生理盐水, 藤茶总黄酮高、低剂量组, 藤茶总黄酮固体脂质纳米粒高、低剂量组均分别按 2.4、0.6 g/kg 剂量灌胃给予相应含药混悬液, 各组小鼠每天给药 1 次, 连续 10 d。每天称定小鼠体质量, 观察其活动、毛发色泽、死亡等情况。最后 1 次给药结束, 小鼠禁食不禁水 24 h 后处死, 完整剥离腋窝皮下实体瘤, 称定质量, 计算抑瘤率, 同时剖取胸腺、脾脏后称定质量, 计算脏

器指数,公式分别为抑瘤率 = (1 - 给药组肿瘤质量/模型组肿瘤质量) × 100%、胸腺(或脾脏)指数 = 胸腺(或脾脏)质量/小鼠体质量。

2.3 药动学研究

2.3.1 LC-MS/MS 条件 参考文献 [15-16] 报道。

2.3.1.1 色谱 Shim-pack XR-ODS III 色谱柱 (75 mm × 2.0 mm, 1.6 μm); 流动相 0.1% 甲酸-乙腈 (85 : 15); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 1 μL。

2.3.1.2 质谱 负离子多级反应 (MRM) 模式; 电喷雾离子源 (ESI); 定量离子对, 二氢杨梅素 m/z 319.15 ~ 193.20, 二氢槲皮素 m/z 303.20 ~ 125.10; 雾化气体积流量 3.0 L/min; 干燥气、加热气体积流量 10.0 L/min; 接口电压 3.0 kV; 接口温度 400 °C; 检测器电压 1.76 kV; CID 气 230 kPa。

2.3.2 分组及给药 按“2.2.2”项下方法制备含药混悬液, 藤茶总黄酮质量浓度为 7.5 mg/mL。大鼠适应性饲养 5 d 后, 随机分为藤茶总黄酮组、藤茶总黄酮固体脂质纳米粒组, 每组 6 只, 于实验前 12 h 禁食, 自由饮水, 按 150 mg/kg 剂量灌胃给药, 于 0.167、0.33、0.5、0.667、1、2、3、4、6、8、12、24 h 眼眶静脉丛采血各 0.5 mL, 置于肝素钠处理的 EP 管中, 静置 30 min, 4 °C 下 6 000 r/min 离心 15 min 分离血浆, -20 °C 下冷冻保存。

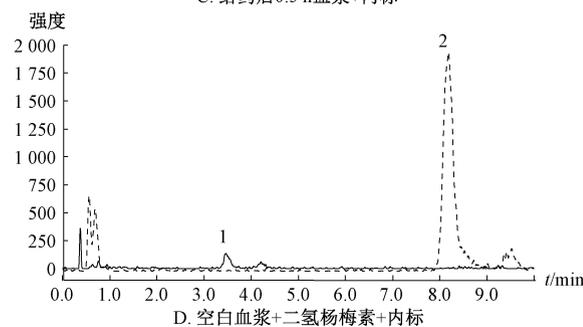
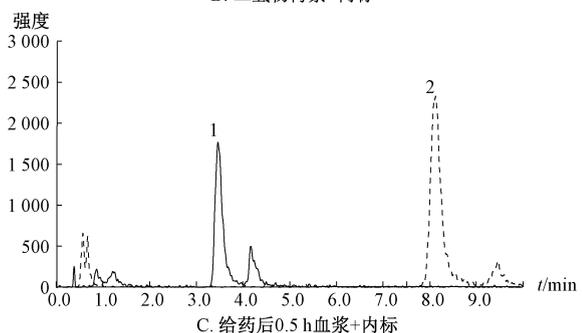
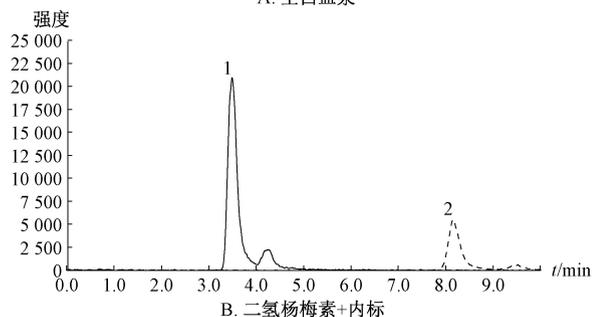
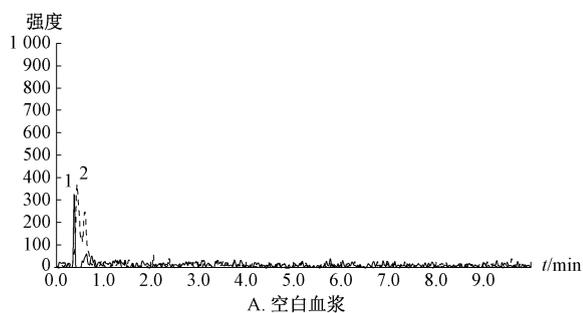
2.3.3 血浆样品处理 精密吸取“2.3.2”项下血浆 100 μL 于离心管中, 加入内标 (二氢槲皮素) 溶液 10 μL, 涡旋 30 s, 加入 1% 甲酸乙腈 (蛋白沉淀剂) 190 μL, 涡旋 5 min, 4 °C 下 17 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 在“2.3.1”项条件下进样测定。

2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 对照品、内标溶液制备 精密称取二氢杨梅素对照品、内标 (二氢槲皮素) 适量, 置于 100 mL 量瓶中, 乙腈溶解定容, 即得 (两者质量浓度分别为 50、30 μg/mL)。

2.3.4.2 专属性考察 取“2.3.4.1”项下对照品、内标溶液, 以及按“2.3.3”项下方法处理的空白血浆、含药血浆样品溶液, 在“2.3.1”项条件下进样测定, 结果见图 1。

2.3.4.3 线性关系考察 精密吸取空白血浆 90 μL, 加入 10 μL 对照品溶液, 制成含二氢杨梅



1. 二氢杨梅素 2. 内标 (二氢槲皮素)

1. dihydromyricetin 2. internal standard (dihydroquercetin)

图 1 二氢杨梅素 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of dihydromyricetin

素 1、5、10、20、50、100、200、500 ng/mL 的血浆样品溶液, 按“2.3.3”项下方法处理, 在“2.3.1”项条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标 (X), 二氢杨梅素、内标峰面积比值为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程为 $Y = 0.004 3X - 0.022 6$ ($r = 0.999 6$), 在 1~500 ng/mL 范围内线性关系良好, 定量限 (S/N=10) 为 1 ng/mL。

2.3.4.4 精密性、准确度试验 制备含 5、20、200 ng/mL 二氢杨梅素的血浆样品溶液, 各平行 3

份,按“2.3.3”项下方法处理,在“2.3.1”项条件下进样测定,连续3 d,测得二氢杨梅素日内、日间精密度 RSD 分别为 0.25%~1.16%、0.67%~1.13%,准确度为 95%~106%,均符合 2015 年版《中国药典》规定的生物样品分析要求。

2.3.4.5 提取回收率、基质效应试验 制备含 5、20、200 ng/mL 二氢杨梅素的血浆样品溶液,各平行 3 份,按“2.3.3”项下方法处理,在“2.3.1”项条件下进样测定,记录峰面积 A_1 ;按“2.3.3”项下方法处理空白血浆后离心,上清液中加入相应质量浓度的对照品、内标溶液,在“2.3.1”项条件下进样测定,记录峰面积 A_2 ;用 1% 甲酸乙腈制成相同质量浓度的对照品、内标溶液,在“2.3.1”项条件下进样测定,记录峰面积 A_3 ,计算提取回收率、基质效应,公式分别为提取回收率 = $A_1/A_2 \times 100\%$ 、基质效应 = $A_2/A_3 \times 100\%$,测得两者分别为 81.86%~90.99%、86.63%~101.40%,均符合生物样品质量控制要求,表明二氢杨梅素受基质的影响较小。

2.3.4.6 稳定性试验 制备含 5、20、200 ng/mL 二氢杨梅素的血浆样品溶液,各平行 3 份,按“2.3.3”项下方法处理后,分别在 -80 °C 下反复冻融 3 次、-20 °C 下冷冻保存 15 d、室温 (25 °C) 下放置 12 h,在“2.3.1”项条件下进样测定。结果,二氢杨梅素峰面积 RSD 为 1.27%~6.49%,表明在上述保存条件下血浆样品稳定性均良好。

2.3.5 数据分析 绘制血药浓度-时间曲线,采用 DAS 2.0 软件中的二房室模型计算主要药动学参数。

3 结果

3.1 对 HepG2 细胞的抑制作用 图 2 显示,藤茶总黄酮及其固体脂质纳米粒作用 24、48、72 h 后,均对细胞增殖有较强的抑制作用,并呈浓度依赖性,其中 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 前者作用 72 h,50~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后者作用 48、72 h 后的体外抑制率均达到 80% 以上。另外,藤茶总黄酮 IC_{50} 分别为 163.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (24 h)、89.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (48 h)、49.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (72 h),而其固体脂质纳米粒分别为 68.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (24 h)、39.99 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (48 h)、32.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (72 h),表明后者活性更显著。

3.2 抗肝癌活性研究 表 1~3 显示,与模型组比较,除藤茶总黄酮低剂量组外,各组对小鼠肿瘤的抑制作用比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),而且纳米粒活性强于原料药;与空白组比较,模型

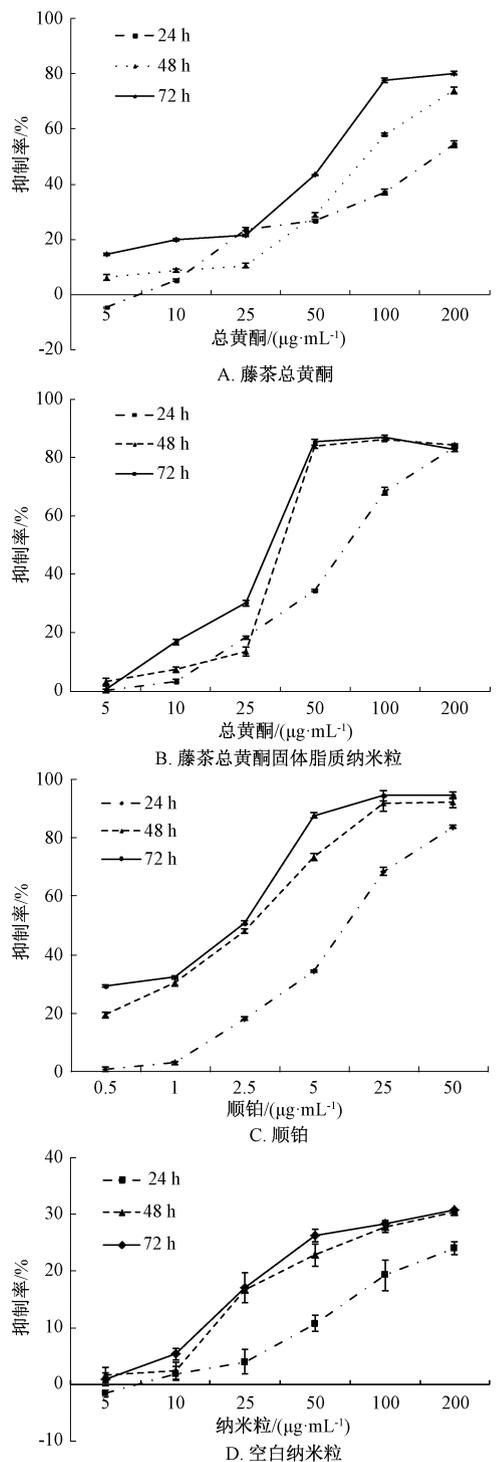


图 2 各样品对 HepG2 细胞抑制率的影响
Fig. 2 Effects of various samples on the inhibitory rate of HepG2 cells

组、阳性药组小鼠体质量均降低 ($P < 0.01$),而藤茶总黄酮组、藤茶总黄酮固体脂质纳米粒组无明显变化 ($P > 0.05$);与空白组比较,阳性药组小鼠胸腺、脾脏指数降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),可能与环磷酰胺具有较强的免疫损失有关,而其他组无明显变化 ($P > 0.05$)。

表1 各样品对小鼠肿瘤的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.1 Effects of various samples on tumors in mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	平均瘤重/g	抑瘤率/%	P 值
空白组	—	—	—
模型组	0.57±0.12	—	—
阳性药组	0.06±0.20	89.68±3.30	<0.001
藤茶总黄酮高剂量组	0.25±0.34	56.20±5.71	<0.001
藤茶总黄酮低剂量组	0.45±0.11	21.79±4.93	0.334
藤茶总黄酮固体脂质纳米粒高剂量组	0.16±0.68	72.22±2.65	<0.001
藤茶总黄酮固体脂质纳米粒低剂量组	0.29±0.10	59.93±5.89	0.001

表2 各样品对小鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.2 Effects of various samples on the body weight of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	初始体质量/g	结束体质量/g	P 值
空白组	25.10±0.73	26.40±0.84	—
模型组	26.00±1.66	23.20±1.22	<0.001
阳性药组	25.20±1.63	21.00±0.81	<0.001
藤茶总黄酮高剂量组	24.60±1.67	25.70±1.06	0.999
藤茶总黄酮低剂量组	24.70±1.64	26.20±1.31	1.000
藤茶总黄酮固体脂质纳米粒高剂量组	25.20±0.70	26.30±0.95	1.000
藤茶总黄酮固体脂质纳米粒低剂量组	24.90±0.84	26.80±1.81	0.987

表3 各样品对小鼠免疫器官的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.3 Effects of various samples on immune organs in mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	胸腺指数		脾脏指数	
	胸腺指数	P 值	脾脏指数	P 值
空白组	2.27±2.58	—	3.40±2.63	—
模型组	2.08±1.79	0.166	4.58±2.34	0.112
阳性药组	0.50±2.68	<0.001	2.44±2.94	0.028
藤茶总黄酮高剂量组	2.02±1.77	0.493	4.50±1.76	0.122
藤茶总黄酮低剂量组	2.42±2.43	0.051	4.56±1.52	0.141
藤茶总黄酮固体脂质纳米粒高剂量组	2.07±2.00	0.553	3.98±1.65	0.563
藤茶总黄酮固体脂质纳米粒低剂量组	1.70±2.25	0.057	4.33±1.85	0.126

3.3 药动学研究 血药浓度-时间曲线见图3, 相关数据经 DAS 2.0 软件进行拟合后发现, 藤茶总黄酮及其固体脂质纳米粒的体内药动学均符合二室模型。表4 显示, 藤茶总黄酮固体脂质纳米粒组 C_{max} 、 T_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 AUC_{0-24h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 高于藤茶总黄酮组 ($P < 0.01$), 分别是后者的 1.76、1.94、2.03、2.80、2.49 倍。

4 讨论

本实验结果表明, 藤茶总黄酮制成固体脂质纳米粒后可明显提高其抗肝癌作用, 推测可能与该剂型可改善原料药与肿瘤细胞的亲和力^[17]、具有良好的肿瘤靶向递送能力等优势有关。采用 LC-MS/

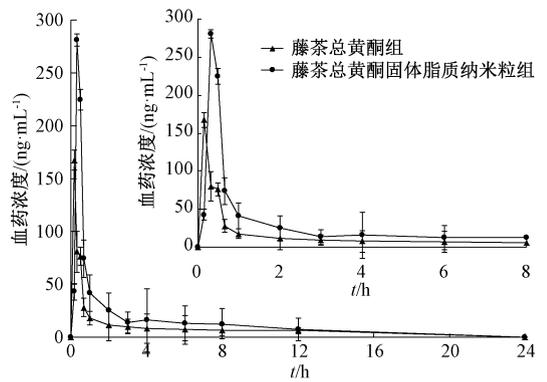


图3 各样品血药浓度-时间曲线

Fig.3 Plasma concentration-time curves for various samples

表4 各样品主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab.4 Main pharmacokinetic parameters for various samples ($\bar{x}\pm s, n=6$)

参数	单位	藤茶总黄酮固体脂质纳米粒组	藤茶总黄酮组	P 值
C_{max}	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	277.29±12.90	157.24±9.38	<0.001
T_{max}	h	0.33±0.01	0.17±0.02	0.009
$t_{1/2}$	h	10.03±2.56	4.93±2.07	0.004
AUC_{0-24h}	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$	284.30±9.17	101.54±5.71	<0.001
$AUC_{0-\infty}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$	398.22±47.89	159.95±33.56	<0.001

MS 法检测总黄酮主要成分二氢杨梅素的血药浓度, 发现藤茶总黄酮制成纳米粒后该成分口服生物利用度显著提高, 可能是由于纳米粒粒径小, 比表面积大, 可增加其与胃肠道黏膜的接触面积, 从而促进药物有效吸收^[18]。另外, 该纳米粒能有效减缓二氢杨梅素体内消除, 延长其 $t_{1/2}$, 可能是药物被嵌入固体脂质基质骨架中而避免外界因素破坏, 增加其稳定性, 并可使其在体内缓慢释放, 延长作用时间。

同时, 藤茶总黄酮及其纳米粒口服给药后二氢杨梅素血药浓度很低, 但其体内抗肝癌活性较好, 产生这种低生物利用度、高药理活性现象的原因可能有 (1) 研究表明单次或长期大剂量连续口服二氢杨梅素时, 其吸收量随剂量及给药时间增加而显著升高^[19], 本实验给药剂量大 (600、2 400 mg/kg), 周期长 (10 d), 使其血药浓度同时具有剂量、时间上的叠加作用, 从而发挥持久抑瘤活性^[20]; (2) 与健康大鼠比较, 糖尿病模型大鼠中二氢杨梅素 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 等药动学参数均显著升高^[21], 而本实验目前只考察了总黄酮及其纳米粒在正常大鼠体内的药动学, 而二氢杨梅素在病理状态下的生物利用度可能会明显增加; (3) 二氢杨梅素经胃肠道代谢后产生 8 种代谢产物, 经肠道

吸收进入血液循环,或作用于肠道菌群,或直接刺激肠道免疫应答系统,从而发挥相应药效^[22]; (4) 二氢杨梅素口服后其血药浓度降低,可能在组织分布中较高^[23],尤其是制成固体脂质纳米粒后,纳米载体可使其具有明显的肝脏靶向性^[24]。另外,本实验只测定了血浆中二氢杨梅素含量,但其在肝、脾、肺中的含量可能会明显升高,从而增强疗效,具体将在今后作进一步研究。

参考文献:

[1] Gingold J A, Zhu D D, Lee D F, *et al.* Genomic profiling and metabolic homeostasis in primary liver cancers[J]. *Trends Mol Med*, 2018, 24(4): 395-411.

[2] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.

[3] 甘彩玉, 郑作文, 梁冰洁, 等. 从 PI3K/Akt/p53 通路探讨藤茶总黄酮抗肝癌的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12): 90-96.

[4] 周春权, 林静瑜, 姚 欣, 等. 藤茶总黄酮体外抗肿瘤实验研究[J]. 中国医药科学, 2012, 2(9): 50-51.

[5] 周春权, 姚 欣, 陈晓明, 等. 藤茶提取物的抗肿瘤作用研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6): 640-642.

[6] 高倩倩, 杨秀芬, 欧 敏. 藤茶总黄酮和二氢杨梅素含药血清对肝癌 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(4): 500-503.

[7] 易 开, 林珠灿, 柳庆龙, 等. 闽产藤茶总黄酮提取物中三种主成分的含量测定[J]. 福建中医药, 2017, 48(2): 51-52; 55.

[8] 樊静静. 二氢杨梅素在小鼠体内的药代动力学研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2014.

[9] 张文娟, 陈一桢, 唐兰如, 等. 二氢杨梅素长循环纳米脂质体的制备及大鼠体内药动学研究[J]. 中草药, 2018, 49(4): 806-813.

[10] 高彩芳, 夏加璇, 朱 颖, 等. 纳米技术在改善中药有效成分成药性中的应用[J]. 中草药, 2018, 49(12): 2754-2762.

[11] Thukral D K, Dumoga S, Mishra A K. Solid lipid nanoparticles; promising therapeutic nanocarriers for drug

delivery[J]. *Curr Drug Deliv*, 2014, 11(6): 771-791.

[12] 杨毛毛, 罗花彩, 沙 玫, 等. 藤茶总黄酮固体脂质纳米粒处方的优化及其体外释药行为[J]. 中成药, 2019, 41(8): 1941-1945.

[13] 胡 诚, 梁 琨, 安 叟, 等. TPGS 修饰青蒿琥酯脂质体的制备及其体外抗肿瘤活性[J]. 中成药, 2017, 39(3): 492-498.

[14] 王添敏, 俞文婕, 付 莹, 等. 胡桃楸总鞣质的小鼠体内抗肿瘤作用研究[J]. 中国医药导报, 2017, 14(3): 16-19.

[15] Liu L, Yin X L, Wang X, *et al.* Determination of dihydromyricetin in rat plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study[J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 657-662.

[16] Yang C J, Wang Z B, Mi Y Y, *et al.* UHPLC-MS/MS determination, pharmacokinetic, and bioavailability study of taxifolin in rat plasma after oral administration of its nanodispersion[J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 494.

[17] 何 瑶, 郭晓华. 依托泊苷固体脂质纳米粒的制备与抗癌活性研究[J]. 中国药师, 2018, 21(5): 792-796.

[18] 杨金枝, 孙文霞, 王姣姣, 等. 白杨素固体脂质纳米粒的制备及其药动学行为[J]. 中成药, 2018, 40(1): 76-80.

[19] 王志琪. 二氢杨梅素动物药代动力学研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2012.

[20] 蔡少青, 王 璇, 尚明英, 等. 中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3435-3443.

[21] Zhao X Y, Shi C Y, Zhou X Y, *et al.* Preparation of a nanoscale dihydromyricetin-phospholipid complex to improve the bioavailability: *in vitro* and *in vivo* evaluations[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, 138: 104994.

[22] 范 莉. 中药藤茶的质量评价及其活性成分二氢杨梅素的代谢相关研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2018.

[23] Tong Q, Hou X L, Fang J G, *et al.* Determination of dihydromyricetin in rat plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 114: 455-461.

[24] 王 震, 李 洁, 张生杰, 等. 异穿心莲内酯固体脂质纳米粒药动学、组织分布及靶向性研究[J]. 中药材, 2019, 42(9): 2118-2122.