

黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳制备及其体外抗 A549 细胞活性研究

张紫薇, 栾敏娜, 董金鹏, 范紫鑫, 张 强, 孙 玉, 卜晓阳*, 陈云艳*
(皖南医学院药学院, 安徽 芜湖 241002)

摘要: 目的 制备黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳, 并考察其体外抗 A549 细胞活性。方法 筛选乳化剂 EL35、RH 40、吐温 80 及助乳化剂无水乙醇、丙二醇、PEG 400, 绘制伪三元相图。以油相与乳化剂比例为影响因素, 包封率、载药量为评价指标, 单因素试验优化处方, 检测粒径、Zeta 电位、包封率、载药量、释放率, CCK8 法检测体外细胞毒性。结果 最佳处方为主药 (黄芪甲苷) 用量 10 mg, 油相 (80 mg β-榄香烯、320 mg Labrafil M1944 CS) 用量 400 mg, 乳化剂 (EL 35) 用量 450 mg, 助乳化剂 (PEG 400) 用量 150 mg, 平均粒径为 (11.28±1.05) nm, Zeta 电位为 (-0.16±0.14) mV, 包封率为 (99.70±1.46)%, 载药量为 (1.00±0.03)%。微乳对 A549 细胞增殖有抑制作用, 并且随着黄芪甲苷、β-榄香烯质量浓度增加, 24、48 h 抑制率升高。结论 该方法稳定可靠, 可制备具有较强体外抗 A549 细胞活性的黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳。
关键词: 黄芪甲苷; β-榄香烯; 微乳; 制备工艺; A549 细胞
中图分类号: R944 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2691-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.034

肺癌是常见恶性肿瘤之一, 每年约有一百多万死亡病例^[1], 其中非小细胞肺癌占比 80%~90%^[2]。目前, 治疗非小细胞肺癌的主要手段会导致病情复发、转移等负面效果^[3], 并且费用较高^[4], 故此需要积极寻找其他方法。

黄芪是传统中药^[5], 含有皂苷类、黄酮类、多糖类等成分, 其中皂苷类主要活性物质为黄芪甲苷^[6], 对肺癌、卵巢癌、肝癌、乳腺癌、结直肠癌等均有抑制作用^[7-8], 但该成分在水中的溶解度较差, 口服给药后生物利用度也较低^[9], 从而限制了其临床应用。榄香烯是从温莪术中提取出的生物活性成分^[10], 以 β-榄香烯为主^[11], 可通过不同途径和靶点发挥抗肿瘤作用^[12-13], 如诱导细胞凋亡、激活细胞依赖性途径、阻滞细胞周期等^[14]。前期报道, 上述 2 种成分联用可诱导肿瘤细胞凋亡和肿瘤细胞增殖^[15], 故本实验制备黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳 (以黄芪甲苷为主要活性成分, β-榄香烯代替油相中部分辅料来减少后者用量), 并考察其体外抗 A549 细胞活性, 以期达到减毒增效的作用。

1 材料

1.1 试剂与药物 黄芪甲苷对照品 (批号 RH527397, 上海易恩化学技术有限公司, 纯度 98%); β-榄香烯对照品 (批号 230501, 湖北云镁科技有限公司, 纯度 98%)。

Labrafil M1944 CS (批号 N2402180078, 南京都莱生物技术有限公司); 聚氧乙烯 35 蓖麻油 (EL 35, 批号 201802, 商城北纳创联生物科技有限公司); 聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油 (RH 40, 批号 75389809T0, 德国 BASF SE 公司); 聚乙二醇 400、Tween 80、1, 2-丙二醇 (批号 20211214、120128、20120601, 国药集团化学试剂有限公司); 无水乙醇 (批号 20230406, 安徽安特食品股份有限公司); DMEM 高糖细胞培养基、PBS (批号 8123639、8122618, 美国 Gibco 公司); 胰酶细胞消化液 (批号 23136237, 北京兰杰柯科技有限公司); CCK8 试剂盒 (批号 GK10001, 上海碧云天生物技术股份有限公司)。

1.2 仪器 Waters 2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Wonda Cract ODS-2 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm, 日本 Shimadzu 公司); SQP 电子天平 (十万分之一, 德国 Sartorius 公司); 恒温磁力搅拌器 (常州市金坛区西城新瑞仪器厂); JW-2017HR 高速冷冻离心机 (安徽嘉文仪器装备有限公司); 气浴恒温振荡器 (上海世平实验设备有限公司); FD5-S 真空冷冻干燥箱 (美国 SIM 公司); Nano-ZS 激光散射粒径测定仪 (英国马尔文仪器有限公司); JEM-2100F 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); ESCO CO₂ 细胞培养箱 (新加坡 CelCulture 公司); 多功能酶标仪 (美

收稿日期: 2024-05-28
基金项目: 国家自然科学基金 (22304132); 安徽省自然科学基金 (2108085QH370); 安徽省高校科学研究项目 (2023AH040249, 2023AH051772)
作者简介: 张紫薇 (1999—), 女, 硕士生, 从事新药及相关新产品研发工作。Tel: 18356739792, E-mail: zhangzw9918@163.com
*通信作者: 卜晓阳 (1987—), 女, 硕士, 中级实验师, 从事抗肿瘤中药纳米递药系统研究。Tel: 18355309908, E-mail: 1052852562@qq.com
陈云艳 (1984—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事抗肿瘤中药纳米递药系统研究。Tel: 18298251590, E-mail: cyy1206@163.com

国 Thermo 公司)。

1.3 细胞 人非小细胞肺癌 A549 细胞 (中国科学院细胞库)。

2 方法与结果

2.1 处方筛选 采用单因素试验,固定油相用量 400 mg,油相与乳化剂比例分别为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1。

2.1.1 油相 称取过量黄芪甲苷对照品,与 Labrafil M1944 CS 充分混合均匀,在 37 ℃恒温振荡器中 100 r/min 振荡 24 h,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,甲醇稀释后采用 HPLC 法测定黄芪甲苷含量,计算其在 Labrafil M1944 CS 中的溶解度,结果为 (57.9±0.9) mg/g。文献 [16] 报道,黄芪甲苷在辛酸/癸酸甘油三酯、蓖麻油中的溶解度分别为 (54.3±0.1)、(45.3±0.3) mg/g,故本实验选择溶解度最高的 Labrafil M1944 CS 作为油相。

2.1.2 乳化剂 以 β-榄香烯和 Labrafil M1944 CS 为油相,PEG 400 为助乳化剂,EL 35、RH 40、Tween 80、PEG 400 (前三者与后者比例均为 3:1) 为乳化剂,按“2.1”项下比例置于西林瓶中,在磁力搅拌器上 42 ℃恒温水浴搅拌

6~8 h 至均匀,缓慢滴加去离子水,记录微乳进凝胶区、出凝胶区和成乳时所滴加的水量,绘制伪三元相图。

2.1.3 助乳化剂 以 β-榄香烯和 Labrafil M1944 CS 为油相,EL 35 为乳化剂,无水乙醇、丙二醇、PEG 400 与 EL 35 (前三者与后者比例均为 3:1) 为乳化剂,按“2.1”项下比例均匀搅拌,记录微乳进凝胶区、出凝胶区和成乳时所滴加的水量,绘制伪三元相图。

2.1.4 K_m 值 以 EL 35 为乳化剂,PEG 400 为助乳化剂,乳化剂比例分别为 1:1、2:1、3:1,按“2.1”项下比例均匀搅拌,记录微乳进凝胶区、出凝胶区和成乳时所滴加的水量,绘制伪三元相图。

2.1.5 结果分析 由表 1 可知,乳化剂比例为 3:1 时均有变相点。由图 1 可知,微乳区面积依次为 EL 35>RH 40>Tween 80,故确定 EL 35 作为乳化剂。由图 2 可知,微乳区面积依次为 PEG 400>丙二醇>无水乙醇,故确定 PEG 400 作为助乳化剂。由图 3 可知, K_m 值为 3:1 时微乳区面积最大,故油相、乳化剂、助乳化剂最优用量分别为 400、450、150 mg。

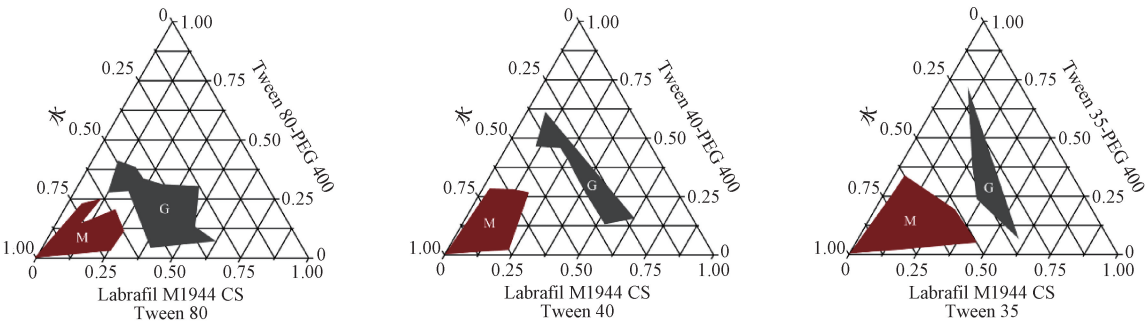
表 1 乳化剂筛选结果

乳化剂	是否有相变点(油相:乳化剂)
Tween 80-PEG400(1:1)	无相变点
Tween 80-PEG400(2:1)	无相变点
Tween 80-PEG400(3:1)	2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 有相变点,其他无相变点
Tween 80-丙二醇(1:1)	无相变点
Tween 80-丙二醇(2:1)	无相变点
Tween 80-丙二醇(3:1)	4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 有相变点,其他无相变点
Tween 80-无水乙醇(1:1)	无相变点
Tween 80-无水乙醇(2:1)	无相变点
Tween 80-无水乙醇(3:1)	2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2 有相变点,其他无相变点
EL 35-PEG400(1:1)	无相变点
EL 35-PEG400(2:1)	无相变点
EL 35-PEG40(3:1)	1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 有相变点
EL 35-丙二醇(1:1)	无相变点
EL 35-丙二醇(2:1)	无相变点
EL 35-丙二醇(3:1)	2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 有相变点,其他无相变点
EL 35-无水乙醇(1:1)	无相变点
EL 35-无水乙醇(2:1)	无相变点
EL 35-无水乙醇(3:1)	3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2 有相变点,其他无相变点无相变点
RH 40-PEG400(1:1)	无相变点
RH 40-PEG400(2:1)	无相变点
RH 40-PEG400(3:1)	1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 有相变点
RH 40-丙二醇(1:1)	无相变点
RH 40-丙二醇(2:1)	无相变点
RH 40-丙二醇(3:1)	1:9、2:8、4:6、5:5、6:4、9:1 有相变点,其他无相变点
RH 40-无水乙醇(1:1)	无相变点
RH 40-无水乙醇(2:1)	无相变点
RH 40-无水乙醇(3:1)	3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 有相变点,其他无相变点

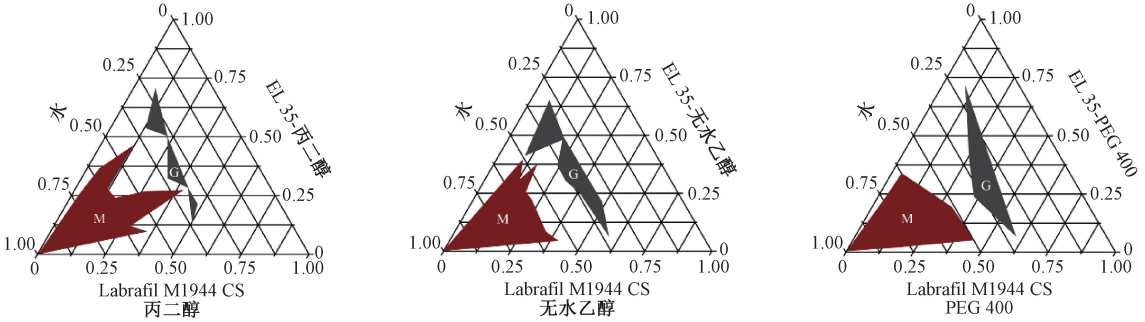
2.1.6 投药量筛选 课题组前期研究表明,在 10 mL 微乳中黄芪甲苷投药量为 20、15、10 mg 时,包封率随着投药量增加而降低^[17],故确定为 10 mg;β-榄香烯投药量为 200、100、90 mg 时,微乳无乳光和分层现象,为 80 mg 时 2692

可成功制备^[17],为了减少辅料用量和后期抗肿瘤活性评价,故确定为 80 mg。

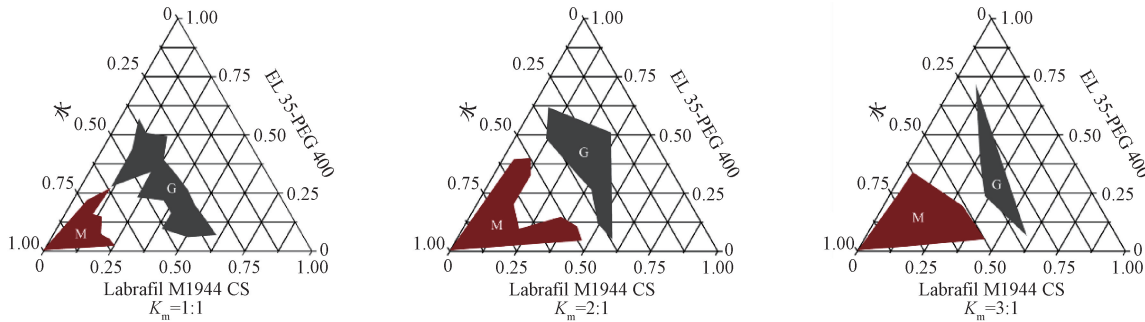
2.2 微乳制备 分别精密称取黄芪甲苷 10 mg、β-榄香烯 80 mg、Labrafil M1944 CS 320 mg、EL 35 450 mg、PEG 400



注：M 代表微乳区面积，G 代表凝胶区。
图 1 基于不同乳化剂的黄芪甲苷-（β-榄香烯）微乳伪三元相图



注：M 代表微乳区面积，G 代表凝胶区。
图 2 基于不同助乳化剂的黄芪甲苷-（β-榄香烯）微乳伪三元相图



注：M 代表微乳区面积，G 代表凝胶区。
图 3 基于不同 Km 值的黄芪甲苷-（β-榄香烯）微乳伪三元相图

150 mg，置于西林瓶中，在磁力搅拌器上 42 ℃ 恒温搅拌 4~6 h，缓慢滴加去离子水至 10 mL，即得。

2.3 微乳表征 吸取稀释后的“2.2”项下微乳 1 mL，测定其粒径、Zeta 电位及 PDI，结果三者分别为（11.28±1.05）nm、（-0.16±0.14）mV 及 0.653±0.020，并且其外观呈乳白色状，见图 4A。在透射电子显微镜下发现，微乳呈圆球状，外观圆整，见图 4B。

2.4 黄芪甲苷含量测定 采用 HPLC 法。

2.4.1 色谱条件 Wonda Cract ODS-2 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈-水（34：66）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 25 ℃；检测波长 203 nm；进样量 10 μL。

2.4.2 溶液制备

2.4.2.1 对照品溶液 精密称取黄芪甲苷对照品 10 mg，甲醇定容至 10 mL，超声混匀，过滤，即得。

2.4.2.2 供试品溶液 精密称取“2.2”项下微乳 0.5 mL，甲醇定容至 5 mL，超声破乳，离心，取 0.2 mL 上清液，过滤，即得。

2.4.3 专属性考察 精密称取空白溶剂（甲醇）及对照品、供试品溶液适量，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 5。由此可知，对照品、供试品溶液中黄芪甲苷色谱峰保留时间一致，空白无干扰，表明该方法专属性良好。

2.4.4 线性关系考察 取“2.4.2”项下对照品溶液适量，依次稀释至 1 000、500、250、125、62.5、31.3 μg/mL，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为 Y=431.47X+2 324.6（r=0.999 9），在 31.3~1 000 μg/mL 范围内线性关系良好。

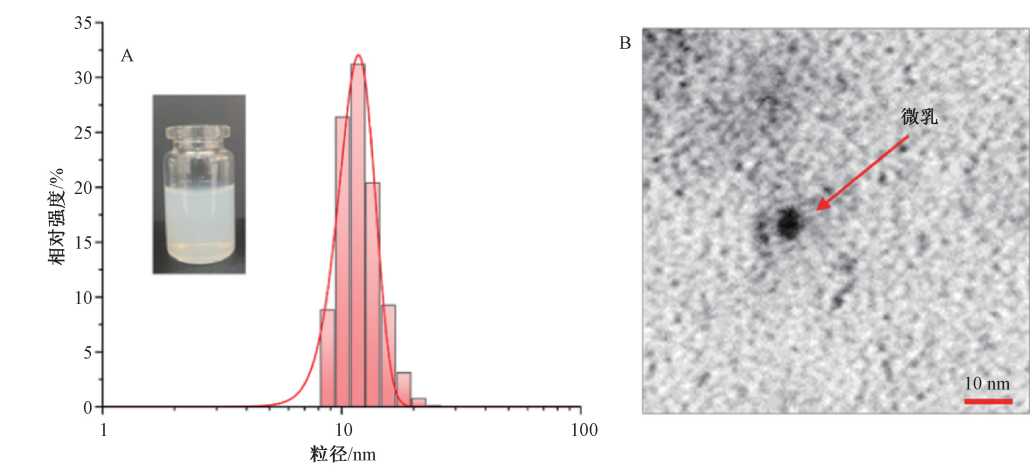


图 4 黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳表征图

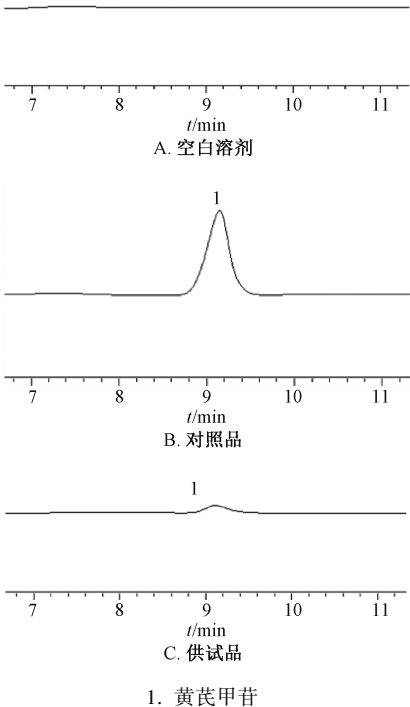


图 5 黄芪甲苷 HPLC 色谱图

2.4.5 精密度试验 取“2.4.2”项下对照品溶液适量，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得黄芪甲苷峰面积 RSD 为 1.85%，表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 取“2.4.2”项下供试品溶液适量，于 0、2、4、6、8、12、24、48、72 h 在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芪甲苷峰面积 RSD 为 2.43%，表明溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.4.7 重复性试验 取同一批微乳，按“2.4.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芪甲苷峰面积 RSD 为 1.96%，表明该方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 精密称取黄芪甲苷对照品 10 mg，置于 25 mL 量瓶中，加入 10 mL 空白微乳，甲醇定容并超声混匀，按“2.4.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，

在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，黄芪甲苷平均加样回收率为 100.54%，RSD 为 2.52%。

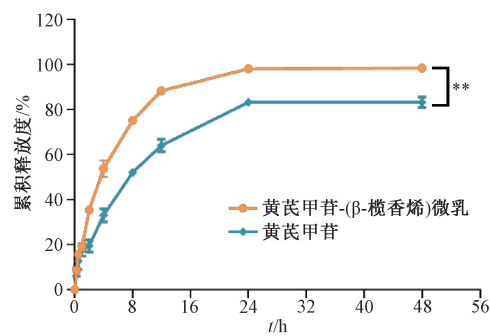
2.5 包封率测定 取“2.2”项下微乳适量，按“2.4.2”项下方法平行制备 3 份供试品溶液，取续滤液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，计算包封率，公式为包封率=（包封黄芪甲苷含量/黄芪甲苷投药量）×100%，结果为（99.70±1.46）%。

2.6 载药量测定 取“2.2”项下微乳续滤液 1 mL，冷冻干燥，称定冻干粉质量，加入甲醇至 1 mL，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，计算载药量，公式为载药量=（冻干粉复溶液中黄芪甲苷含量/冻干粉总质量）×100%，结果为（1.00±0.03）%。

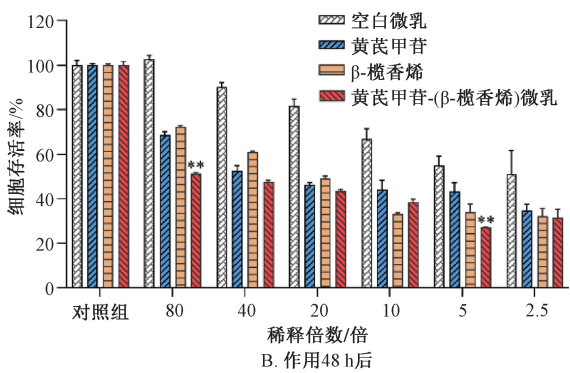
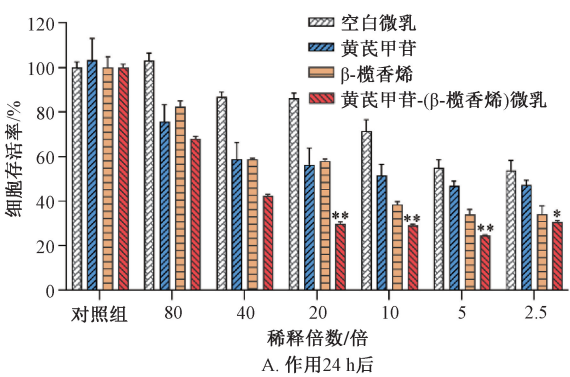
2.7 统计学分析 通过 Graphpad Prism 9.5.1 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，2 组间比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2.8 体外释药研究 取“2.2”项下微乳 0.6 mL，填充于透析袋中，置于 50 mL 含 0.5% Tween 80 的 PBS 缓冲液中，置于 37 ℃ 孵育箱中振摇，分别于 0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48 h 取样，同时称取 10 mg 黄芪甲苷对照品，制成相同质量浓度的溶液，平行 3 份，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，计算释放率，结果见图 6。由此可知，黄芪甲苷 48 h 内累积释放度为（83.34±2.32）%，而其微乳的达（98.59±0.16）%，表明微乳可使原料药更快速高效地释放到溶出介质中，并改善后者水溶性。

2.9 细胞毒性试验 采用 CCK8 法，将 A549 细胞置于含 10% BSA 的 DMEM 培养基中培养，取对数生长期者，按 5×10³/孔密度接种于 96 孔板中，空白组不含药物和细胞，对照组用不含血清的 DMEM 培养基处理，实验组分别用稀释 2.5~80 倍的空白微乳 [不含黄芪甲苷和 β-榄香烯，其他成分与黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳相同]、黄芪甲苷（1 mg/mL）、β-榄香烯（8 mg/mL）、黄芪甲苷- (β-榄香烯) 微乳（1 mg/mL 黄芪甲苷+8 mg/mL β-榄香烯）处理，细胞贴壁后，实验组加入稀释后的含药 DMEM 培养基，对照组



注：与黄芪甲苷比较，** $P < 0.01$ 。
图 6 黄芪甲苷体外释放曲线 ($n = 3$)



注：空白微乳、黄芪甲苷、 β -榄香烯、黄芪甲苷- (β -榄香烯) 微乳中黄芪甲苷、 β -榄香烯质量浓度均分别为 12.5 ~ 400、12.5 ~ 400、12.5 ~ 400、100 ~ 3 200 $\mu\text{g/mL}$ 。与黄芪甲苷比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图 7 黄芪甲苷- (β -榄香烯) 微乳对 A549 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

3 讨论与结论

黄芪甲苷能抑制肿瘤细胞的增殖，并促使其发生凋亡，从而对非小细胞肺癌产生直接的抗肿瘤效果^[18]，但该成分水溶性差，生物利用度低，限制了临床应用。研究表明，将黄芪甲苷制成微乳后可提高其在水中的溶解度^[19]； β -榄香烯是一种安全的、临床广泛应用的抗癌成分，常应用于相关联合治疗中^[20]，可通过抑制非小细胞肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭来降低其恶性程度^[21]，但该成分存在水溶性较差、生物利用度低等问题。因此，为了解决上述问题，

更换 DMEM 培养基，培养 24、48 h 后，每孔加入 10 μL CCK8 继续培养 2 h，在 450 nm 波长处检测光密度 (OD)，计算细胞增殖抑制率，公式为抑制率 = $[(\text{OD}_{\text{实验组}} - \text{OD}_{\text{空白组}}) / (\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{空白组}})] \times 100\%$ 。再采用 Graphpad Prism 9.5.1 软件计算黄芪甲苷、 β -榄香烯、黄芪甲苷- (β -榄香烯) 微乳 IC_{50} 值，结果 24 h 后三者分别为 69.01、73.45、21.10 $\mu\text{g/mL}$ ，48 h 后分别为 56.27、53.06、16.29 $\mu\text{g/mL}$ 。由图 7 可知，原料药和微乳对 A549 细胞增殖均具有抑制作用，并呈剂量、时间依赖性，而空白微乳处理后细胞存活率始终在 50% 以上，即无抑制作用；与原料药比较，微乳对 A549 细胞的抑制率更高 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，表明黄芪甲苷和 β -榄香烯具有协同抗肿瘤疗效。

本实验采用同一载体有效实现黄芪甲苷、 β -榄香烯共载，并提高两者生物利用度。

微乳是一种特殊的纳米药物，具有自发形成、热力学稳定等特点，可提高难溶性药物的溶解度和生物利用度，同时该制剂具有小粒径的优势，能很好地渗透到肿瘤内部，使抗肿瘤疗效得到提高^[22-24]。本实验将黄芪甲苷与 β -榄香烯共同制成微乳，在解决了两者溶解度差的前提下成功提高了生物利用度。

综上所述，本实验选择黄芪甲苷作为主要抗肿瘤活性

成分， β -榄香烯替代部分微乳油相以降低常规辅料用量，制备黄芪甲苷-（ β -榄香烯）微乳，发现 2 种成分可达到协同抗肿瘤作用。该制剂解决了黄芪甲苷溶解度、生物利用度低等问题，同时在体外实验中具有显著抑制 A549 细胞增殖的作用，从而为基于多组分的肺癌协同治疗提供了一种有前途的方法。

参考文献:

[1] Thai A A, Solomon B J, Sequist L V, *et al.* Lung cancer[J]. *Lancet*, 2021, 398(10299): 535-554.

[2] Kim J W, Marquez C P, Kostyrko K, *et al.* Antitumor activity of an engineered decoy receptor targeting CLCF1-CNTFR signaling in lung adenocarcinoma[J]. *Nat Med*, 2019, 25 (11): 1783-1795.

[3] Upadhyaya A, Yadav K S, Misra A. Targeted drug therapy in non-small cell lung cancer: clinical significance and possible solutions: part I [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2021, 18(1): 73-102.

[4] Zhang J, Xu T T, Chen F, *et al.* miRNA-195-5p functions as a tumor suppressor and a predictive of poor prognosis in non-small cell lung cancer by directly targeting CIAPIN1[J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(3): 1181-1190.

[5] 王绍鹏, 杨光远, 林鸿扬, 等. 黄芪甲苷的药理作用研究进展[J]. *广东化工*, 2021, 48(24): 48-49; 44.

[6] Li L, Hou X J, Xu R F, *et al.* Research review on the pharmacological effects of astragaloside IV[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2017, 31(1): 17-36.

[7] 侯本超, 何志坚, 刘海云, 等. 黄芪甲苷对结直肠癌 HCT116 细胞增殖、迁移及侵袭的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(5): 144-149.

[8] 赵小强, 赵 静, 张浩波, 等. 黄芪甲苷的提取、分离、纯化及其药理作用的研究进展[J]. *华西药理学杂志*, 2022, 37(6): 711-716.

[9] Zhang Q, Zhu L L, Chen G G, *et al.* Pharmacokinetics of astragaloside IV in beagle dogs[J]. *Eur J Drug Metabol Pharmacokinet*, 2007, 32(2): 75-79.

[10] Zhai B T, Zhang N N, Han X M, *et al.* Molecular targets of β -elemene, a herbal extract used in traditional Chinese medicine, and its potential role in cancer therapy: a review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 114: 108812.

[11] Wang J, Xu C, Chen Y, *et al.* β -Elemene enhances the antitumor activity of erlotinib by inducing apoptosis through AMPK and MAPK pathways in TKI-resistant H1975 lung cancer cells[J]. *J Cancer*, 2021, 12(8): 2285-2294.

[12] Jamwal R. Bioavailable curcumin formulations: a review of

pharmacokinetic studies in healthy volunteers[J]. *J Integr Med*, 2018, 16(6): 367-374.

[13] Jiang Z Y, Jacob J A, Loganathachetti D S, *et al.* β -Elemene: mechanistic studies on cancer cell interaction and its chemosensitization effect[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 105.

[14] Chen P, Li X J, Zhang R N, *et al.* Combinative treatment of β -elemene and cetuximab is sensitive to KRAS mutant colorectal cancer cells by inducing ferroptosis and inhibiting epithelial-mesenchymal transformation[J]. *Theranostics*, 2020, 10(11): 5107-5119.

[15] Shi L P, Chen T T, Yuan Z, *et al.* Apoptosis and antitumor effects between β -elemene and astragaloside and drug mechanism analysis[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2018, 31 [5 (Special)]: 2271-2276.

[16] 张小飞, 果秋婷, 邹俊波, 等. 黄芪甲苷自乳化释药系统的制备及大鼠在体肠吸收研究[J]. *中草药*, 2019, 50(13): 3037-3043.

[17] 陈云艳, 马 睿, 卜晓阳, 等. 基于“药辅合一”的紫杉醇-薏苡仁油微乳的制备及含量测定[J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40(8): 1064-1069.

[18] 刘玉才, 刘亚群, 庄海涛, 等. 黄芪抗非小细胞肺癌作用机制研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2023, 32(16): 52-56.

[19] 李 霞, 郭 弘, 毛登烜, 等. 2 种丹参酮 II_A-黄芪甲苷共载纳米给药系统的制备及体外抗肿瘤活性比较[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(3): 672-680.

[20] Xu C, Jiang Z B, Shao L, *et al.* β -Elemene enhances erlotinib sensitivity through induction of ferroptosis by upregulating lncRNA H19 in EGFR-mutant non-small cell lung cancer[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 191: 106739.

[21] Zhao S Y, Wu J J, Zheng F, *et al.* β -Elemene inhibited expression of DNA methyltransferase 1 through activation of ERK1/2 and AMPK α signalling pathways in human lung cancer cells: the role of Sp1[J]. *Cell Mol Med*, 2015, 19 (3): 630-41.

[22] Chen Y Y, Zhang Z W, Qian Z L, *et al.* Sequentially released liposomes enhance anti-liver cancer efficacy of tetrandrine and celastrol-loaded coix seed oil[J]. *Int J Nanomedicine*, 2024, 19: 727-742.

[23] Chen Y Y, Wang S Z, Hu Q Y, *et al.* Self-emulsifying system co-loaded with paclitaxel and coix seed oil deeply penetrated to enhance efficacy in cervical cancer[J]. *Curr Drug Deliv*, 2023, 20(7): 919-926.

[24] Chen Y Y, Qu D, Fu R P, *et al.* A Tf-modified tripterine-loaded coix seed oil microemulsion enhances anti-cervical cancer treatment[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 7275-7287.