

[制 剂]

蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒的制备及其体内药动学研究

周 开¹, 张佩琛¹, 郝海军², 付金芳¹, 范明松^{2*}

(1. 郑州澍青医学高等专科学校, 河南 郑州 450064; 2. 上海雷允上药业有限公司技术中心, 上海 201401)

摘要: **目的** 制备蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒, 并研究其体内药动学。**方法** 乳化-超声分散法制备固体脂质纳米粒, 考察其粒径、Zeta 电位、包封率、载药量。SD 大鼠灌胃给予蒙花苷、蒙花苷磷脂复合物、蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒的 0.5% CMC-Na 混悬液 (含 40 mg/kg 蒙花苷) 后, HPLC 法测定蒙花苷血药浓度, 计算主要药动学参数。**结果** 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒的粒径为 (216.72±3.57) nm, Zeta 电位为 (-8.7±0.7) mV, 包封率为 82.06%, 载药量为 4.72%。与原料药比较, 磷脂复合物、固体脂质纳米粒 $t_{\max}$ 延长 ($P<0.05$), $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 以后者更明显 ($P<0.05$, $P<0.01$), 相对生物利用度分别增加至 1.39、2.89 倍。**结论** 固体脂质纳米粒可进一步促进蒙花苷磷脂复合物体内吸收, 提高其生物利用度。

关键词: 蒙花苷; 磷脂复合物; 固体脂质纳米粒; 制备; 体内药动学; 乳化-超声分散法; HPLC

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)06-1401-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.06.001

Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex

ZHOU Kai¹, ZHANG Pei-chen¹, HAO Hai-jun², FU Jin-fang¹, FAN Ming-song^{2*}

(1. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou 450064, China; 2. Technical Center, Shanghai Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China)

ABSTRACT: AIM To prepare the solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex and to study the *in vivo* pharmacokinetics. **METHODS** For the solid lipid nanoparticles prepared by emulsion-ultrasonic dispersion method, the particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency and drug loading were investigated. SD rats were given intragastrical administration of the 0.5% CMC-Na suspensions of buddleoside, buddleoside phospholipid complex and solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex (containing 40 mg/kg buddleoside), after which HPLC was adopted in the plasma concentration determination of buddleoside, and main pharmacokinetic parameters were calculated. **RESULTS** The solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex demonstrated the particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency and drug loading of (216.72±3.57) nm, (-8.7±0.7) mV, 82.06% and 4.72%, respectively. Compared with raw medicine, phospholipid complex and solid lipid nanoparticles displayed prolonged $t_{\max}$ ($P<0.05$) and increased $C_{\max}$, AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ ($P<0.05$, $P<0.01$), especially for the latter ($P<0.05$, $P<0.01$), and their relative bioavailabilities were increased to 1.39 times and 2.89 times, respectively. **CONCLUSION** Solid lipid nanoparticles can further promote buddleoside phospholipid complex's *in vivo* absorption and enhance its bioavailability.

KEY WORDS: buddleoside; phospholipids complex; solid lipid nanoparticles; preparation; *in vivo* pharmacokinetics; emulsion-ultrasonic dispersion method; HPLC

收稿日期: 2019-10-28

基金项目: 上海市科委专项计划 (17DZ1900107)

作者简介: 周 开 (1981—), 男, 讲师, 主治医师, 研究方向为中医内科心脑血管疾病。Tel: (0371) 67673621, E-mail: zhktcm2012@163.com

* 通信作者: 范明松 (1973—), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向为药物开发。Tel: (021) 51801316, E-mail: fanmingsong007@163.com

蒙花苷是一种天然黄酮类化合物,主要存在于野菊花、密蒙花等植物中,具有降血压、抗氧化、镇痛、疏风清热、抗菌消炎、养肝明目等药理作用^[1-3]。近年来研究^[4]发现,内皮细胞损伤导致的功能性障碍与高血压、动脉粥样硬化、糖尿病等多种心血管疾病密切相关,故预防和逆转内皮细胞损伤有望成为治疗心脑血管疾病的新方法,而蒙花苷对血管内皮细胞具有明显的保护和修复作用^[5-6],有望开发成预防、治疗心脑血管疾病的新药。但该成分水溶性和脂溶性均较差^[7],导致体内吸收困难。

纳米给药系统在促进难溶性药物体内吸收、提高生物利用度方面具有较大优势,但由于蒙花苷脂溶性较差,严重影响了它与纳米脂质载体的亲和性,往往导致纳米粒包封率较低^[8],故为了获得高包封率的固体脂质纳米粒,需先改善药物脂溶性。据报道,磷脂复合物技术有助于改善药物脂溶性^[8-10],故本实验采用溶剂挥发法制备蒙花苷磷脂复合物^[11],并进一步制成固体脂质纳米粒,再对其基本理化性质及体内药动学进行研究。

1 材料

1.1 仪器 CPA255D型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);THZ-92A型恒温振荡器(上海翠柳实验仪器有限公司);DF-101S型磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);D8型X射线粉末衍射仪(瑞士Bruker公司);ND200-2型氮气吹扫仪(徐州晟浩电子科技有限公司);XW-80A型漩涡混合器(上海医科大学仪器厂)。

1.2 试剂与药物 蒙花苷对照品(批号111528-201606,纯度99.5%,中国食品药品检定研究院)。卵磷脂(批号PC98T,辅必成上海医药科技有限公司);单硬脂酸甘油酯(批号T160522)、泊洛沙姆188(批号WPW1602B)(德国巴斯夫公司)。磺胺甲恶唑对照品(批号T20160615,纯度>99.0%,上海泽叶生物科技有限公司)。

1.3 动物 SD大鼠,体质量280~320 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,雌雄兼用,动物生产许可证号SCXK(沪)2012-0002。

2 方法与结果

2.1 蒙花苷固体脂质纳米粒制备 称取蒙花苷21 mg、大豆磷脂29 mg、单硬脂酸甘油酯300 mg,溶于10 mL (60±1)℃无水乙醇中,作为有机相;

将0.3 g 泊洛沙姆188溶于同温度30 mL蒸馏水中,作为水相,1 000 r/min转速下将有机相滴入水相中,继续搅拌0.5 h得到初乳,置于超声波细胞粉碎仪中超声处理8 min(功率500 W,每超声2 s间隔1 s),立即置于-20℃冰箱中固化,0.22 μm微孔滤膜过滤,即得纳米粒混悬液。

2.2 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒制备 称取蒙花苷60 mg、大豆卵磷脂80 mg,置于30 mL四氢呋喃中(1:1),1 000 r/min转速下恒温(45℃)搅拌5 h,减压旋蒸除去四氢呋喃,得到磷脂复合物^[11]。采用乳化超声分散法制备固体脂质纳米粒,称取磷脂复合物50 mg、单硬脂酸甘油酯300 mg,溶于10 mL (60±1)℃无水乙醇中,作为有机相;将0.3 g 泊洛沙姆188溶于同温度30 mL蒸馏水中,作为水相,1 000 r/min转速下将有机相滴入水相中,继续搅拌0.5 h得到初乳,置于超声波细胞粉碎仪中超声处理8 min(功率500 W,每超声2 s间隔2 s),立即置于-20℃冰箱中固化,0.22 μm微孔滤膜过滤,即得纳米粒混悬液。

2.3 蒙花苷含量测定

2.3.1 色谱条件 Waters C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相甲醇-0.4%磷酸(55:45);体积流量1.0 mL/min;柱温30℃;检测波长325 nm;进样量20 μL。

2.3.2 供试品溶液制备 精密量取0.5 mL蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒混悬液,加入0.5 mL甲醇超声处理后定容至10 mL,12 000 r/min离心10 min,精密量取1 mL至100 mL量瓶中,流动相定容至刻度,HPLC法测定蒙花苷总含量。同法配制空白溶液。

2.3.3 方法学考察 称取蒙花苷对照品18.0 mg溶于100.0 mL甲醇中,得到0.18 mg/mL贮备液,精密量取5 mL于100 mL量瓶中,流动相定容至刻度,即得(9.0 μg/mL),精密量取1.0 mL于10 mL量瓶中,流动相定容至刻度,即得(0.9 μg/mL),再进一步稀释成0.01、0.2、0.3、0.45、0.6、0.9 μg/mL,在“2.3.1”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得方程为 $Y=13.5756X+2.0419$ ($r=0.9997$),在0.01~0.9 μg/mL范围内线性关系良好。

取“2.3.2”项下供试品溶液,于0、4、6、8、12、24 h在“2.3.1”项色谱条件下进样测定,测得蒙花苷含量的RSD为0.48%,表明溶液在

24 h内稳定性良好。取 0.01、0.6、0.9 μg/mL 对照品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得日内精密度 RSD 分别为 1.31%、0.27%、0.08%，表明该方法精密度良好。于空白溶液中分别加入 0.45 μg/mL 对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL，平行 3 份，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得平均加样回收率为 100.92%，RSD 为 1.74%。

2.4 参数测定

2.4.1 包封率、载药量 采用超滤离心法。精密量取 1.0 mL 纳米粒混悬液于超滤离心管中，12 000 r/min离心 60 min。精密量取 0.5 mL 续滤液，加入 0.5 mL 甲醇超声处理，定容至 10 mL，精密量取 1 mL 至 100 mL 量瓶中，流动相定容至刻度，HPLC 法测定外管续滤液中蒙花苷含有量 ($m_{游离}$)；精密量取 0.5 mL 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒混悬液，加入 0.5 mL 甲醇超声处理，定容至 10 mL，12 000 r/min 离心 10 min，精密量取 1 mL 至 100 mL 量瓶中，流动相定容至刻度，HPLC 法测定蒙花苷总含有量，计算包封率、载药量，公式分别为包封率= $[(m_{总药}-m_{游离药})/m_{总药}] \times 100\%$ 、载药量= $[(m_{总药}-m_{游离药})/m_{药脂}] \times 100\%$ ，其中 $m_{总药}$ 表示总药物量， $m_{游离药}$ 表示游离药物量， $m_{药脂}$ 表示药物和脂质总量。结果，磷脂复合物固体脂质纳米粒平均包封率为 82.06%，载药量为 4.72%，高于固体脂质纳米粒的 52.63%、2.93%，故选择前者作进一步研究。

2.4.2 粒径、Zeta 电位 量取蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒 0.2 mL，加入 4.0 mL 蒸馏水，振荡混匀后测定粒径、Zeta 电位，结果见图 1~2，可知平均粒径为 (216.72 ± 3.57) nm，PDI 为 0.067 ± 0.09 ，Zeta 电位为 (-8.7 ± 0.7) mV。

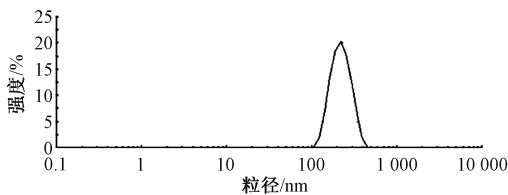


图 1 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒粒径分布
Fig.1 Particle size distribution of the solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex

2.4.3 形态 量取蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒混悬液适量，按照 1：20 比例用蒸馏水稀释后滴加到有支持膜的铜网上，均匀铺展放置 10 min，

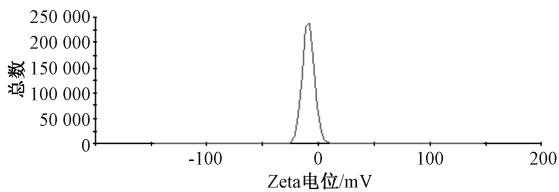


图 2 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒 Zeta 电位
Fig.2 Zeta potential of the solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex

滤纸轻轻吸干，置于 5% 磷钨酸溶液中浸泡 5 min，自然晾干后在透射电镜下观察形态，结果见图 3。由此可知，纳米粒呈类球形或球形，无粘连现象。

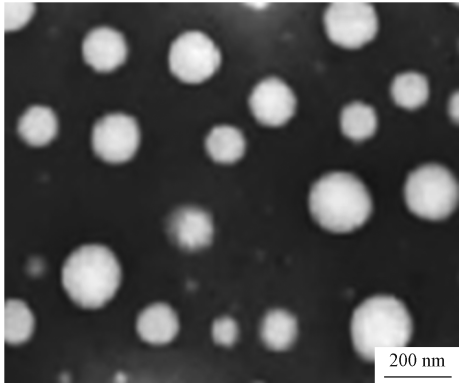


图 3 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒透射电镜图
Fig.3 Transmission electron microscope image for the solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex

2.5 体外稳定性研究 于 0、0.5、1、2、4、6、12、24、36、48 h 测定蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒混悬液粒径变化，结果见图 4。由此可知，纳米粒在 48 h 内粒径变化不显著，可能与静电排斥力有关；磷脂复合物在 0.5 h 内即发生沉淀，可能是由于它一般在非质子溶剂中制备，当接触水相时即发生解离而沉淀。

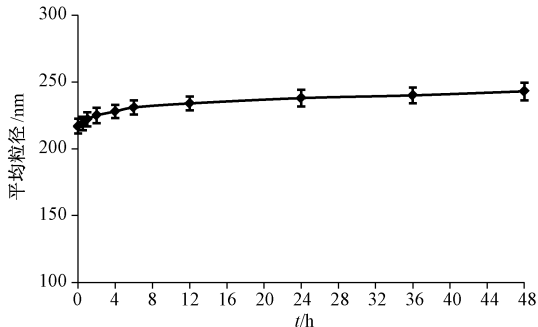


图 4 蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒体外稳定性
Fig.4 In vitro stability of the solid lipid nanoparticles of buddleoside phospholipid complex

2.6 冻干粉制备 量取2 mL蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒混悬液于西林瓶中,加入5%甘露醇混匀,置于-75℃冰箱中预冻12 h后立即放入-40℃冻干机中,平衡3 h后抽真空,4℃/h升温至-25℃,保持48 h,即得。取适量加水重新分散,测得其平均粒径为(252.31±6.11) nm,Zeta电位为(-7.9±0.8) mV,与固体脂质纳米粒混悬液相比,前者有所增大,而后者有所下降。

2.7 体内药动学研究

2.7.1 灌胃液制备 取蒙花苷、蒙花苷磷脂复合物、蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒冻干粉适量,0.5% CMC-Na配制成5 mg/mL(以蒙花苷含有量计),即得。

2.7.2 给药方案及采血 取SD大鼠18只,雌雄兼具,随机分为蒙花苷组、蒙花苷磷脂复合物组、蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒组,每组大鼠按40 mg/kg剂量(以蒙花苷含有量计)分别灌胃给予“2.7.1”项下相应灌胃液。大鼠固定于37℃保温垫上行颈动脉插管术,于5、10、30、45、60、90、120、150、180、240、360 min各取血0.2 mL至肝素化离心管中,2 500 r/min离心3 min,取上层血浆冷冻待测。

2.7.3 血样处理 精密量取磺胺甲恶唑(内标)溶液(228.4 ng/mL)20 μL、血浆样品50 μL,置于离心管中,加入1.5 mL甲醇后涡旋混匀6 min,8 000 r/min离心30 min,分取上清液,45℃下氮气缓慢吹除有机溶剂,加入50 μL甲醇复溶,8 000 r/min离心10 min,取上清液,置于进样瓶的内衬管中待测。

2.7.4 专属性、线性关系考察 将空白血浆在室温下解冻,按“2.7.3”项下方法处理(不加内标),同法处理给药后血浆。另取血浆对照品溶液,在“2.3.1”项色谱条件下进样测定,测得蒙花苷、磺胺甲恶唑(内标)分别在5.9、6.3 min出峰,而且均不受内源性物质干扰。

精密称取磺胺甲恶唑对照品22.84 mg,溶于100 mL甲醇中,得到228.4 μg/mL贮备液,取适量继续稀释至228.4 ng/mL,作为内标溶液。精密称取蒙花苷对照品22.60 mg,溶于100.0 mL甲醇中,甲醇逐步稀释成1 130.0、565.0、282.5、113.0、56.5、28.2 ng/mL,分别量取50 μL,氮气吹干后加入同体积空白血浆,混匀溶解,得到血浆对照品溶液,按“2.7.3”项下方法处理,在“2.3.1”项色谱条件下进样测定。以蒙花苷与内

标峰面积比值为纵坐标(Y),溶液质量浓度为横坐标(X)进行回归,得方程为 $Y = 1.307\ 2X + 8.915\ 3$ ($r = 0.991\ 3$),在28.2~1 130.0 ng/mL范围内线性关系良好。

2.7.5 方法学考察 取28.2、565.0、1 130 ng/mL血浆对照品溶液,在“2.3.1”项色谱条件下进样测定6次,测得日内精密度RSD分别为8.26%、4.83%、4.11%,日间精密度RSD分别为10.64%、7.62%、6.23%,表明该方法精密度良好。任取一份血浆样品,于0、2、4、8、12、24、48 h在“2.3.1”项色谱条件下进样测定,测得蒙花苷、内标峰面积比值RSD为1.92%,表明血浆样品在48 h内稳定性良好。精密称取蒙花苷对照品16.00 mg,溶于100.0 mL甲醇中得160.00 μg/mL溶液,精密量取1.0 mL至100 mL量瓶中,甲醇定容至1 600 ng/mL,继续用甲醇稀释至40.0、400.0、800.0 ng/mL,分别精密量取50 μL,氮气吹干,加入同体积大鼠空白血浆,得40.0、400.0、800.0 ng/mL血浆样品,按“2.7.3”项下方法处理,在“2.3.1”项色谱条件下进样测定,测得回收率分别为92.34%、96.17%、94.72%,RSD均小于1.84%。将25.75 ng/mL血浆对照品溶液逐步稀释,在“2.3.1”项色谱条件下进样测定,测得定量限(信噪比约为10)为6.38 ng/mL,检测限(信噪比约为3)为2.12 ng/mL。

2.7.6 分析结果 图5、表1显示,与蒙花苷比较,其磷脂复合物 C_{max} 、 $AUC_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim\infty}$ 升高($P < 0.05$);与蒙花苷及其磷脂复合物比较,其固体脂质纳米粒 t_{max} 延长($P < 0.05$), C_{max} 、 $AUC_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim\infty}$ 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。另外,磷脂复合物、固体脂质纳米粒相对生物利用度较原料药分别提高至1.39、2.89倍。

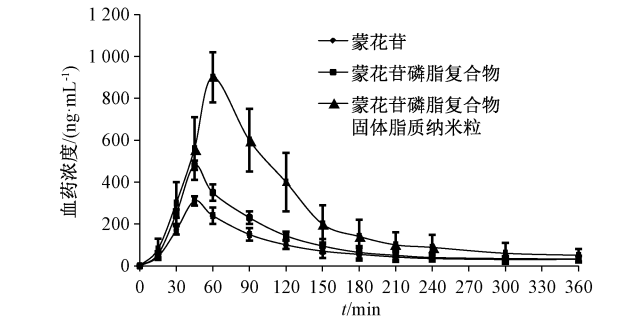


图5 样品血药浓度-时间曲线
Fig. 5 Plasma concentration-time curves for samples

3 讨论

药物亲脂性对固体脂质纳米粒包封率的影响较

表 1 样品主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 1 Main pharmacokinetic parameters for samples ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

参数	单位	蒙花苷	蒙花苷磷脂复合物	蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒
$t_{\max}$	min	41.53±5.62	43.68±5.97	65.76±6.82 ^{*#}
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	315.76±66.08	489.17±76.04 [*]	911.12±135.81 ^{*##}
$AUC_{0\sim t}$	ng·mL ⁻¹ ·min	29 782.30±3 154.69	41 270.83±4 786.51 [*]	86 098.59±8 215.44 ^{**##}
$AUC_{0\sim \infty}$	ng·mL ⁻¹ ·min	34 448.59±4 634.14	43 974.16±5 103.06 [*]	90 089.17±9 154.35 ^{**##}

注:与蒙花苷比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与蒙花苷磷脂复合物比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

大^[9],课题组前期对蒙花苷固体脂质纳米粒进行了研究,发现其包封率仅为 52.63%;本实验将该成分先制成磷脂复合物以提高其脂溶性,增加与脂质载体的亲和性,再进一步制成固体脂质纳米粒,此时包封率提高至 82.06%。

为防止 SD 大鼠处于失血性病理状态,药动学研究中对其进行颈动脉插管术,可最大程度减少采血时血量的损失,也可防止眼眶静脉丛采血时带来的时间误差,可控性较强;另一方面,该方法可使大鼠在实验过程中自由饮水。结果显示,磷脂复合物固体脂质纳米粒可显著升高蒙花苷 $C_{\max}$,促进该成分在机体内的吸收,相对生物利用度提高至 2.89 倍;显著延长 $t_{\max}$,可能是由于固体脂质纳米粒对包裹于其中的药物具有缓释作用^[8],有助于增加药物体内滞留时间,促进其体内吸收,而且纳米粒处方中磷脂、泊洛沙姆本身也具有促进药物体内吸收的作用^[12-14]; $t_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim \infty}$ 与磷脂复合物相比均有显著差异,表明固体脂质纳米粒后能改变磷脂复合物药动学,更有助于促进药物体内吸收。

综上所述,本实验成功制备了蒙花苷磷脂复合物固体脂质纳米粒,为制备高包封率的相关剂型提供了借鉴,也为进一步研究其体内药效学^[15-16]奠定了基础。

参考文献:

[1] Martinez-Vazquez M, Ramirez Apan T O, Lastra A L, *et al.* A comparative study of the analgesic and anti-inflammatory activities of pectolarin isolated from *Cirsium subcoriaceum* and linarin isolated from *Buddleia cordata*[J]. *Planta Med*, 1998, 64(2): 134-137.

[2] 石璐,谢国勇,王颀,等. 密蒙花的药学研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2016, 35(3): 34-40.

[3] 郑江萍,叶政德,张幼林,等. 高效液相色谱法同时测定

痤疮消炎洗剂中黄芩苷蒙花苷大黄酸含量[J]. 医药导报, 2017, 36(11): 1294-1297.

[4] Goon P K, Lip G Y, Boos C J, *et al.* Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles in cancer[J]. *Neoplasia*, 2006, 8(2): 79-88.

[5] 吴亚军,苏洁,黄浦俊,等. 蒙花苷对 TNF- α 诱导的血管内皮细胞炎症损伤及 TLR4/IKK α /NF- κ B 信号通路的影响[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 637-643.

[6] 杨耀,陈波,梁凯伦,等. 蒙花苷与木犀草素联用对离体血管的舒张作用及其机制研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1370-1375.

[7] 韩越,许浚,张铁军. 蒙花苷溶解度及油水分配系数的研究[J]. 药物评价研究, 2012, 35(2): 120-123.

[8] 徐凯,魏永鸽. 高乌甲素磷脂复合物纳米粒的制备、表征及药动学研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(5): 870-874.

[9] 魏永鸽,徐凯. 青藤碱磷脂复合物的制备、表征及体外透皮研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(8): 1449-1453.

[10] 刘蒸生,郝海军,马进安. 高乌甲素磷脂复合物及其固体分散体在大鼠体内的药动学[J]. 医药导报, 2018, 37(4): 449-452.

[11] 付金芳,高青,胡瑞瑞,等. 蒙花苷磷脂复合物的制备及其药动学评价[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(16): 2039-2043.

[12] 徐艳艳,丁佳圣,翁金燕,等. 4 种磷脂囊泡的细胞毒性及促胰岛素细胞内转运的研究[J]. 医药导报, 2018, 37(8): 943-947.

[13] 任少琳,符馨尹,裔文静. 肝素-泊洛沙姆 407 新材料应用进展[J]. 医药导报, 2019, 38(1): 75-78.

[14] 李阳杰,周敬. 木犀草素磷脂复合物的制备、表征及体内药动学行为[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1381-1384.

[15] 陈祥艳,孙云,陈舒,等. 姜黄素对宫颈癌小鼠的抗肿瘤活性及免疫功能的影响[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(15): 1861-1864.

[16] 张志敏,秦传蓉,章必成,等. 小檗碱对肝癌 HepG2 细胞增殖和凋亡的调节作用[J]. 医药导报, 2018, 37(5): 512-518.