doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.05.012

竹节参皂苷Ⅳa纳米体系对脑梗死的靶向治疗*

吴忻晶[1,2] 关 月[1△] 郭桂萍[1] 曹珊珊[1] 葛 洁[1]

(1 空军军医大学第一附属医院药剂科 陕西 西安 710032;2 山西省运城市中心医院药学部 山西 运城 044000)

摘要 目的:制备和评价以乳铁蛋白修饰的,荷载竹节参皂苷Ⅳa的脂质-聚合物杂化纳米体系(CⅣa/Lf-LPNs),用于脑梗死的靶向治疗。**方法:**采用纳米沉淀法制备了CⅣa/Lf-LPNs、荷载竹节参皂苷Ⅳa的脂质-聚合物杂化纳米体系(CⅣa/LPNs)、乳铁蛋白修饰的空载脂质-聚合物杂化纳米体系(Lf-LPNs),比较了它们的理化性质、体外释药性质、大鼠血液和脑中药物浓度变化及其对脑梗死模型大鼠的存活率和生化指标的影响。**结果:**乳铁蛋白修饰为纳米制剂带来正电荷,并附着在纳米体系表面,增大了纳米粒子的直径。三种纳米制剂的包封率均为90%左右。CⅣa/Lf-LPNs具有更持久的药物释放行为。CⅣa/Lf-LPNs组和CⅣa/LPNs组的血药浓度曲线是相似的,但二者脑部药物浓度曲线不同,CⅣa/Lf-LPNs组几乎每个时间点的脑部药物浓度均高于CⅣa/LPNs组(P<0.05)。此外,CⅣa/Lf-LPNs组提高了脑梗死模型大鼠的存活率,大鼠血清LDH含量最低,对脑梗死的改善作用显著优于CⅣa/LPNs和CⅣa溶液组(P<0.05)。**结论:**本文制备的CⅣa/Lf-LPNs可有效传递药物到达脑部,并持续的发挥改善脑梗死作用,是一种极具潜力的脑靶向治疗体系。

关键词:脑梗死;纳米疗法;脂质-聚合物杂化纳米粒;乳铁蛋白;竹节参皂苷Ⅳa

中图分类号:R-33;R743;R945 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)05-857-05

Nanoparticles of Chikusetsu Saponin Ⅳa for Targeting Therapy of Cerebral Infarction*

WU Xin-jing[1,2], GUAN Yue[1△], GUO Gui-ping[1], CAO Shan-shan[1], GE Jie[1]

(1 Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Pharmacy, Yuncheng Central Hospital, Yuncheng, Shanxi, 044000, China)

ABSTRACT Objective: Lactoferrin-modified lipid-polymer hybrid nanoparticles as a carrier for brain delivery of Chikusetsu saponin Ⅳa (CⅣa/Lf-LPNs)was prepared and evaluated for nano-targeted therapy for cerebral infarction. **Methods:** CⅣa/Lf-LPNs, lipid-polymer hybrid nanoparticles loaded with CⅣa (CⅣa/LPNs) and lipid-polymer hybrid nanoparticles modified by coating with lactoferrin (Lf-LPNs)were prepared by nano-precipitation method. The physical-chemical characteristics and drug release properties were examined in vitro. The changes of drug concentrations in the blood and brain of cerebral infarction model rats were compared. The survival rates and biochemical indexes in blood were also evaluated. **Results:** Lactoferrin modification was positively charged in the nanoformulation and attached to the surface of nanoparticle, increasing the diameter of the nanoparticles. The encapsulation efficiencies of three nano-formulations were all about 90%. CⅣa/Lf-LPNs performed a longer lasting drug release behavior. The drug concentration curves of CⅣa/Lf-LPNs group and CⅣa/LPNs group were similar in plasma, but different in brain. The brain drug concentrations in CⅣa/Lf-LPNs group were higher than those in CⅣa/LPNs group at almost every time point (P< 0.05). In addition, CⅣa/Lf-LPNs increased the survival rate and decreased LDH content of cerebral infarction model rats. The improvement effect of CⅣa/Lf-LPNs on cerebral infarction was significantly better than that of CⅣa/LPNs and CⅣa solution groups (P < 0.05). **Conclusion:** CⅣa/Lf-LPNs effectively delivered drugs to the brain, and played an efficient role in improving cerebral infarction. It might be a promising brain-targeted therapeutic system.

Key words: Cerebral infarction; Nano-therapy; Hybrid lipid-polymer nanoparticles; Lactoferrin; Chikusetsu saponin Ⅳa

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R743; R945 Document code: A

Article ID:1673-6273(2020)05-857-05

前言

2型糖尿病是一种以高血糖和影响眼睛、神经、血管和肾脏的长期并发症为特征的慢性代谢紊乱疾病[1]。糖尿病患者更容易发生脑梗死[2],且脑缺血/再灌注(I/R)损伤的风险会显著增加[3]。竹节参皂苷Ⅳa(Chikusetsu saponin Ⅳa, CⅣa)是齐墩果

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81603325)

作者简介:吴忻晶(1987-),女,硕士研究生,主管药师,主要研究方向:新药研发、临床药学,

电话:(029)84775475,E-mail:345389469@qq.com

△ 通讯作者:关月,女,博士,副主任药师,硕士生导师,主要研究方向:新药研发、临床药学,E-mail:23395691@qq.com

(收稿日期:2019-11-25 接受日期:2019-12-31)

烷型五环三萜类化合物，主要来源于五加科植物竹节参的干燥根茎，是我国土家族和苗族人民常用的传统中草药[4]。近年来，竹节参皂苷Ⅳa 在中枢神经系统[5]、心脑血管系统[6-8]、内分泌系统[9]、抗肿瘤治疗[10]等方面具有广泛的药理作用。研究证实，CⅣa 预处理不仅可以减轻卒中模型小鼠的脑缺血症状，还可明显改善糖尿病模型小鼠的脑缺血 / 再灌注损伤[6]，显示了其卓越的脑血管保护作用。但是由于 CⅣa 不易穿透血脑屏障、生物利用度低[11]，极大限制了药效的发挥。

血脑屏障(BBB)是由排列在脑毛细血管周围的内皮细胞及周围的神经元、星形胶质细胞和周细胞等紧密结合而成的一种功能性生理屏障[12]。血脑屏障的主要作用是保护中枢神经系统免受外源性毒物的侵害，但从另一方面来说，这种结构是治疗脑功能障碍药物传递的最大障碍[13]。乳铁蛋白(Lactoferrin, Lf, MW ~ 80kda)是转铁蛋白(Transferrin, Tf)家族的一部分，是一种单链铁结合糖蛋白，含有 690 个氨基酸，折叠成两个球状叶[14]。乳铁蛋白能够通过受体介导的胞外吞作用穿透血脑屏障[15]。因此，Lf 被用来增强聚合物纳米药物传递系统穿透血脑屏障的能力，并用于治疗阿尔茨海默病[16]、多形性成胶质细胞瘤[17]等多种脑部疾病。

基于纳米技术的药物传递体系，能够增加药物在靶部位的聚集和分布，从而提高治疗效果，降低全身毒性[18]。目前开发出的纳米制剂中，脂质纳米粒和聚合物纳米粒这两大类的应用相当广泛[19]。近年来，新一代的纳米制剂：脂质 - 聚合物杂化纳米体系 (LPNs)被开发[20,21]。LPNs 由聚合物核和脂质壳两大部分组成，它结合了聚合物纳米颗粒的优点，如较高的载药量和较长的药物释放时间；以及脂质体的优点，如合适的生物相容性[22]。聚乙二醇 - 聚乳酸羟基乙酸共聚物(Polyethylene glycol-polylactic acid glycolic acid，PEG-PLGA)是目前最常用的 LPNs 之一，因其良好的生物降解性、生物相容性和多功能性而获得 FDA 批准用于药物传递[23]。而对纳米体系进行配体修饰，可以显著增强其靶向性能[24]。

综上，本文致力于开发乳铁蛋白修饰的，荷载竹节参皂苷Ⅳa 的脂质 - 聚合物杂化纳米体系(CⅣa/Lf-LPNs)。该体系性质稳定，靶向性好，生物相容性强，是一种极具潜力的脑靶向治疗体系，对于脑梗死具有良好的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 材料

Zetasizer 3000 粒度分析仪(英国 Malvern 公司)；电磁搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司)；高效液相色谱仪(美国安捷伦)；自动组织匀浆机(北京同泰联科技发展有限公司)。

聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 (PLGA，50:50, 相对分子质量 25000，西安瑞禧生物科技有限公司)；乳铁蛋白 - 聚乙二醇 - 二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺和聚乙二醇 - 二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(Lf-PEG2000-DSPE and PEG2000-DSPE，西安瑞禧生物科技有限公司)；注射用大豆卵磷脂(西安晋湘药用辅料有限公司)；Sprague-Dawley 大鼠(空军军医大学实验动物中心)。

1.2 方法

1.2.1 CⅣa/ Lf-LPNs 的制备 采用纳米沉淀法制备了 CⅣa/Lf-LPNs (图 1)[25]。将 Lf-PEG2000-DSPE(100 mg)和注射用大豆卵磷脂 (100 mg) 分散在注射用水中形成水相。将 PLGA (100 mg)和 CⅣa(50 mg)溶于丙酮中形成油相。将油相逐滴加入室温下匀速搅拌(400 r/min)的水相中，继续搅拌 4 h 直至有机溶剂完全蒸发，采用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，得到 CⅣa/Lf-LPNs。不载药空白脂质 - 聚合物杂化纳米体系(Lf-LPNs)采用相同方法制备，只是油相中不添加 CⅣa。

不含有乳铁蛋白配体的荷载竹节参皂苷Ⅳa 的脂质 - 聚合物杂化纳米体系(CⅣa/LPNs)采用相同方法制备，只是材料中用 PEG2000-DSPE 替代 Lf-PEG2000-DSPE。

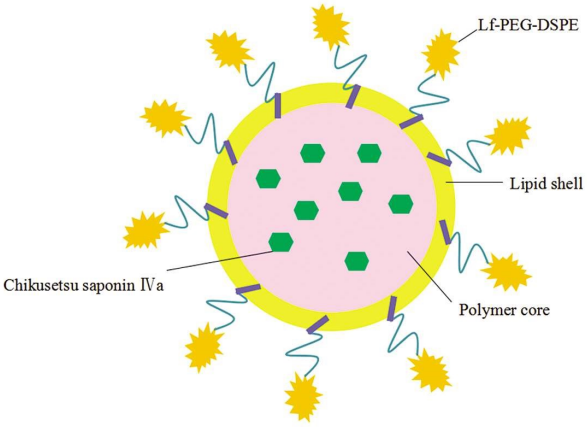


图 1 纳米沉淀法制备 CⅣa/Lf-LPNs

Fig.1 Preparation of CIVa/Lf-LPNs by nanoprecipitation

1.2.2 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的理化性质测定 采用透射电镜法观察纳米粒物理形态和均一性：取制得的 CIVa/Lf-LPNs 少许滴至电镜专用铜网上，自然沉降，再滴加质量浓度为 2%磷钨酸负染 30 s，自然干燥后，放入透射电镜下观察纳米粒的形态并拍照。采用红外光谱法证明纳米体系构建成功：用 IR 扫描了 Lf、CIVa 和 Lf-LPNs。采用动态光散射法测定了 CⅣa/Lf-LPNs、Lf-LPNs 和 CⅣa/LPNs 的粒径和 zeta 电位[26]。所有测量均在 25℃下进行，每个样本平均测定 3 次。采用超滤法测定了 CⅣa/Lf-LPNs 和 CⅣa/LPNs 的包封率(EE)和载药量(DL)。收集滤液，用乙醇稀释，用高效液相色谱法(HPLC)测定[27]：色谱柱为 AgilentZorbax SB-C18 色谱柱(250 mm× 4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈 -0.1％磷酸溶液(33∶67)；流速为 1.0 mL·min^{-1}，柱温为 30℃，检测波长为 203 nm。包封率(EE)和载药量(DL)采用如下公式进行计算：EE (%) = 药物质量 / 体系总质量× 100；DL (%) = 药物质量 / 辅料总质量× 100。

1.2.3 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的体外释放实验 采用透析袋扩散技术进行体外药物释放实验[27]。将 CⅣa/Lf-LPNs 和 CⅣa/LPNs 用磷酸盐缓冲液(PBS)稀释后，转移到透析袋(透过分子量：20 kDa)中，置于 37℃的 PBS 溶液中，用小型搅拌器以 100 r/min 进行搅拌。在不同时间点，取出 100 μL 透析液的并补充等量的新鲜的 PBS。采用 1.2 中的方法测定释放的 CⅣa 的浓度。

1.2.4 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的体内药动学评价 在体内药代动力学研究中，Sprague-Dawley 大鼠被分成了三组，每组分别静脉注射给予(1)CⅣa/Lf-LPNs，(2)CⅣa/LPNs，和(3)CⅣa 溶液[23]。通过眼球后静脉取血于 0.5、1、2、4、8、16、24、36、48

和 72 小时收集血液样本，离心后得到血浆。同时在这些时间点处死大鼠，取其大脑并进行均质化，加入乙腈 -0.1％磷酸溶液(33∶67)来提取其中的药物，离心后和血浆一起采用 2 中的方法测定释放的 CⅣa 浓度。

1.2.5 **大鼠脑梗死模型的制备** Sprague-Dawley 大鼠采用给水合氯醛(350 mg/kg)麻醉并采用仰卧体位固定[28]。于大鼠的颈部正中部位进行切口，暴露并结扎颈总动脉和颈外动脉。于颈总动脉分叉下方剪一切口。使用尼龙线(直径 0.20～ 0.25 mm，烧成圆头)置入颈内动脉 2 厘米左右，有轻微阻力感为止。假手术组除了不插尼龙栓线外，其余步骤同手术组。

1.2.6 **大鼠存活率和生化指标的评价** Sprague-Dawley 大鼠被分成了五组，(1)假手术组，(2)脑梗死模型对照组，(3)-(5)脑梗死模型给药组。(3)-(5)脑梗死模型术后每 12 h 给药 1 次，分别静脉注射给予(3)CⅣa/Lf-LPNs，(4)CⅣa /LPNs，和(5)CⅣa 溶液[29]。大鼠存活率在给药后设定时间点(24、72 h)进行了统计。乳酸盐脱氢酶(LDH)活性测定：设定时间点(24、72 h)从大鼠眼眶后静脉丛取血后，离心后分离血清，按照 LDH 活性测定试剂盒说明书测定各组大鼠的 LDH 活性。

1.3 统计学分析

数据采用 SPSS 20.0 统计软件分析处理，以均数± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较采用 One-way ANOVA 方差分析，与对照组相比 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的理化性质

脂质 - 聚合物杂化纳米体系的透射电镜照片如图 2 所示，CⅣa/Lf-LPNs 呈较均一规则的球体或类球体。IR 图谱中，1550-1750 cm^{-1} 代表酰胺基团的形成。CⅣa/Lf-LPNs 还同时具备 Lf 的特征吸收峰（3250-3500 cm^{-1}）以及 CⅣa 的特征峰（1250-1500 cm^{-1}）。理化性质如表 1 所示：CⅣa/Lf-LPNs 和 Lf-LPNs 的粒径分别为 139.1 ± 2.9 和 136.7 ± 3.1 纳米，Zeta 电位分别为 23.7± 2.4 和 23.3 ± 1.9 毫伏。这说明荷载 CⅣa 并没有改变纳米制剂的粒径和表面电荷。然而，未采用乳铁蛋白修饰的 CⅣa/LPNs 却显示出更小的粒径（105.4± 2.2 纳米）和更高的负电荷(35.4± 1.4 毫伏)，这说明乳铁蛋白修饰为纳米制剂带来了正电荷，并且附着在纳米体系表面，增大了纳米粒子的直径。所有载药纳米制剂的包封率均为 90%左右，展现出良好的药物包封性能。

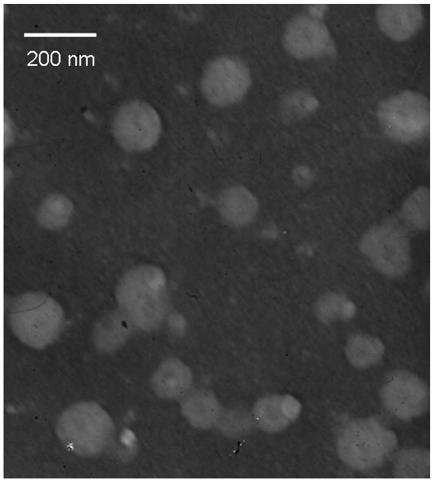


图 2 CⅣa/Lf-LPNs 的透射电镜照片

Fig.2 Transmission electron microscopy image of CIVa/Lf-LPNs

表 1 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的理化性质(Mean ± SD, n=3)

Table 1 Physicochemical properties of lipid-polymer hybrid nanosystems (Mean ± SD, n=3)

	CⅣa/Lf-LPNs	Lf-LPNs	CⅣa/LPNs
Particle size (nm)	139.1 ± 2.9	136.7 ± 3.1	105.4 ± 2.2
Zetapotential (mV)	23.7 ± 2.4	23.3 ± 1.9	35.4 ± 1.4
Encapsulation rate (%)	89.7 ± 1.6	N/A	90.4 ± 1.4
Drug loading capacity (%)	6.5 ± 0.6	N/A	12.6 ± 1.0

2.2 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的体外释放

脂质 - 聚合物杂化纳米体系的释放曲线如图 3 所示。药物从 CⅣa/Lf-LPNs 中的释放速率较慢，超过 80%的药物释放分别由 CⅣa/LPNs 和 CⅣa/Lf-LPNs 在 72 和 96 小时达到。这说明乳铁蛋白修饰的脂质 - 聚合物杂化纳米具有更持久的药物释放行为。CⅣa/ LPNs 的这种缓释模式可能为治疗带来更加持久的效果。

2.3 脂质 - 聚合物杂化纳米体系的体内药动学

图 4 分别展示了大鼠给药后测定的血液药物浓度（A）和脑部药物浓度(B)。可以看出载药 LPNs(CⅣa/Lf-LPNs 和 CⅣa/LPNs 组）血药浓度的下降速率显著低于 CⅣa 的溶液组，证明了纳米制剂的长循环特性，可以较长时间的保持药物浓度。CⅣa/Lf-LPNs 组和 CⅣa/LPNs 组的血药浓度曲线是相似的，并没有展现出显著差别。然而，脑部药物浓度曲线却大不相同。首

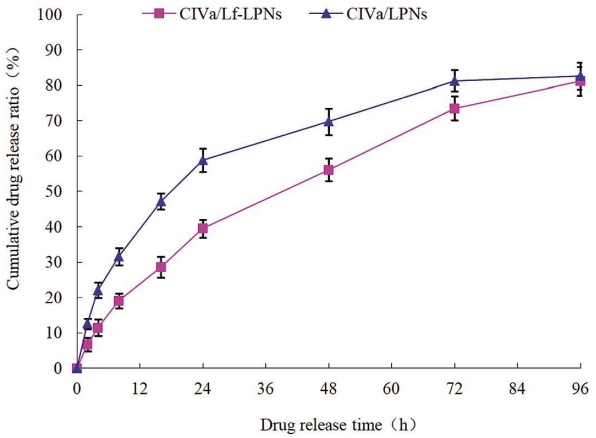


图 3 脂质 - 聚合物杂化纳米体系(LPNs)的体外释放曲线

Fig.3 The release profiles of lipid-polymer hybrid nanosystems (LPNs) *in vitro*

先，载药 LPNs 组相对于 CⅣa 溶液组拥有明显高的脑部药物浓度峰值：CⅣa/Lf-LPNs，CⅣa/LPNs，和 CⅣa 溶液组的脑部药物浓度峰值分别为 251.5± 4.9，156.3± 7.6，和 57.5± 2.1 ng/mL。尤其重要的是，CⅣa/Lf-LPNs 组的脑部药物浓度曲线和 CⅣa/LPNs 组不再相似，其峰浓度以及几乎每个时间点的脑部 CⅣa 浓度均高于后者（P<0.05）。

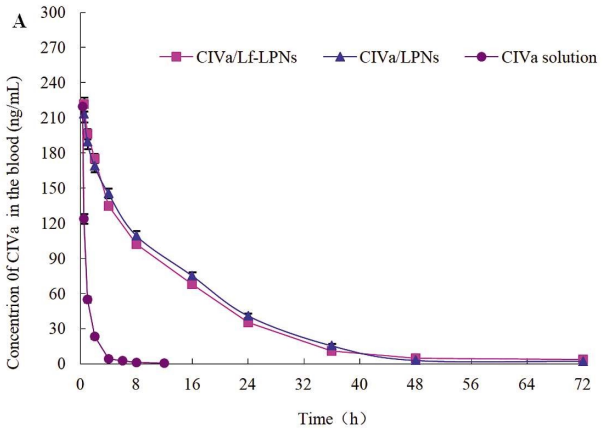


图 4A 大鼠给药后测定的血液药物浓度

Fig.4A The curve of concentration of CIVa in the blood of rats with time

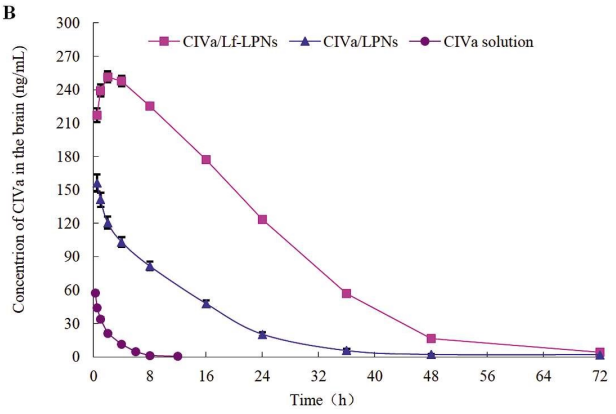


图 4B 大鼠给药后测定的脑部药物浓度

Fig.4B The curve of concentration of CIVa in the brain of rats with time

2.4 大鼠存活率和生化指标评价

对大鼠存活率进行统计表明（图 5），CⅣa/Lf-LPNs，CⅣa/LPNs 和 CⅣa 溶液组均不同程度提高了大鼠存活率。尤其是 CⅣa/Lf-LPNs 和 CⅣa/LPNs 组，存活率分别达到了 100% 和 70%。

进一步检测乳酸盐脱氢酶（LDH）含量发现（图 6），相较 Sham 组，Cerebral ischemia 组 LDH 含量明显增加，差异有统计学意义（P<0.05）；与 Cerebral infarction 组相比，CⅣa/Lf-LPNs、CⅣa/LPNs 组的 LDH 含量明显降低，差异有统计学意义（P<0.05），其中 CⅣa/Lf-LPNs 组的 LDH 含量最低，最接近假手术组，显著低于 CⅣa/LPNs 和 CⅣa 溶液组（P<0.05），表明其对脑梗死的改善作用最显著。

3 讨论

本研究致力于开发乳铁蛋白修饰的，荷载竹节参皂苷Ⅳa 的脂质 - 聚合物杂化纳米体系（CⅣa/Lf-LPNs）。首次将竹节

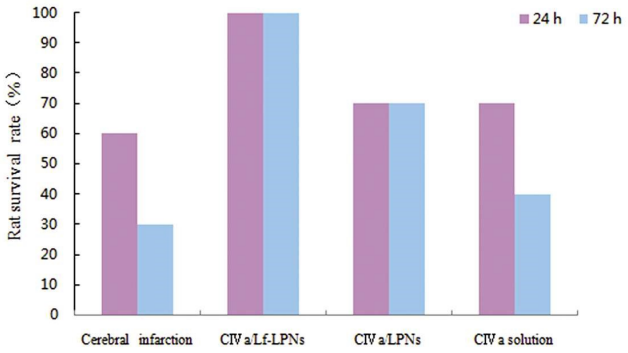


图 5 脂质 - 聚合物杂化纳米体系 (LPNs)对大鼠存活率的影响

Fig.5 Effect of lipid-polymer hybrid nanosystems (LPNs) on survival rate in rats

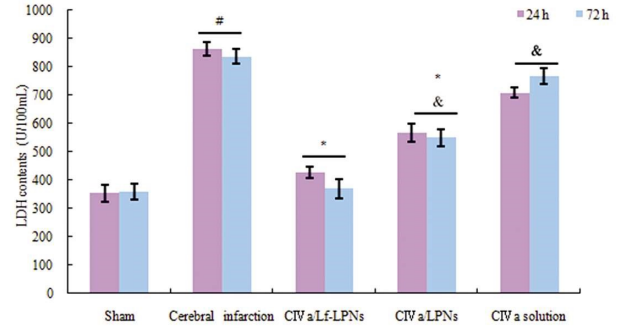


图 6 LPNs 对大鼠乳酸盐脱氢酶（LDH）含量的影响

Fig. 6 Effect of LPNs on the content of lactate dehydrogenase (LDH) in rats

P<0.05 vs. sham group. *P<0.05 vs. Cerebral infarction group.&P<0.05 vs. CⅣa/Lf-LPNs group.

参皂苷Ⅳa 荷载于具备靶向透过血脑屏障能力的脂质 - 聚合物杂化纳米体系中，并且制备出粒径均一，包封率高的纳米制剂体系。

CⅣa/Lf-LPNs 的体外释放具备缓释效果，可以在 72 小时内不间断的释放药物，对于减少给药次数，持续释药维持治疗效果具有重要的意义。同时，未释放的 CⅣa 由于被包封于纳米制剂中，可以被纳米制剂保护而不被降解和清除，更有利于药物在体内产生治疗作用。

在体内药动学试验部分，分别测定了血液药物浓度和脑部药物浓度，从而评价乳铁蛋白修饰纳米制剂是否具备穿透血脑屏障的能力。假如具备穿透 BBB 的性能，脑部药物浓度应该显著高于血液，并且有一定的蓄积效果。试验结果表明，首先乳铁蛋白修饰和未修饰的纳米制剂相对药物溶液组均可以显著提高和保持 CⅣa 在血浆中和脑部的含量。尤其重要的是，CⅣa/Lf-LPNs 组的脑部药物浓度曲线远超过 CⅣa/LPNs 组和 CⅣa 溶液组，体现出良好的脑部靶向和透过血脑屏障的性能。

乳酸脱氢酶 LDH 存在于脑细胞的胞浆内，脑损害时由破损的脑细胞溢出，然后扩散到脑脊液中[30]。脑脊液中 LDH 酶谱变化可反映脑血管病时脑组织损伤的程度，损伤愈严重，酶升高愈显著[31]。因此，动态测量血清 LDH 含量的变化，可以了解神经细胞损伤的程度，判断梗死是否有持续扩大，梗死是否逐渐加重，通过检测 LDH 的变化来判断药物的疗效。结果表明 CⅣa/Lf-LPNs 组的 LDH 含量最低，说明其对脑梗死的改善效果

最为显著。结合大鼠存活率数据，CⅣa/Lf-LPNs 组的存活率为 100%，显著提高了大鼠的存活数量。

上述结果表明，本文制备的 CⅣa/Lf-LPNs 体系可以有效传递药物到达脑部，并缓慢持续高效的发挥改善脑梗死的作用。该纳米制剂是一种极具潜力的脑靶向治疗体系，对于脑梗死具有良好的治疗效果。

参 考 文 献(References)

[1] Kim Y M, Namkoong S, Yun Y G, et al. Water extract of Korean red ginseng stimulates angiogenesis by activating the PI3K/Akt-dependent ERK1/2 and eNOS pathways in human umbilical vein endothelial cells[J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(9): 1674-1679

[2] Rehni A K, Nautiyal N, Perez-Pinzon M A, et al. Hyperglycemia / hypoglycemia-induced mitochondrial dysfunction and cerebral ischemic damage in diabetics [J]. Metab Brain Dis, 2015, 30 (2): 437-447

[3] Luitse M J, Biessels G J, Rutten G E, et al. Diabetes, hyperglycaemia, and acute ischaemic stroke[J]. Lancet Neurol, 2012, 11(3): 261-271

[4] 武秋爽, 陈平, 张庆文. 竹节参化学成分、药理活性及分析方法研究进展[J].亚太传统医药, 2016, 12(06): 46-54

[5] Fang X, Han Q, Li S, et al. Chikusetsu saponin IVa attenuates isoflurane-induced neurotoxicity and cognitive deficits via SIRT1/ERK1/2 in developmental rats[J]. Am J Transl Res, 2017, 9(9): 4288-4299

[6] Duan J L, Yin Y, Cui J, et al. Chikusetsu Saponin IVa Ameliorates Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Diabetic Mice via Adiponectin-Mediated AMPK/GSK-3beta Pathway In Vivo and In Vitro[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(1): 728-743

[7] He H, Xu J, Xu Y, et al. Cardioprotective effects of saponins from Panax japonicus on acute myocardial ischemia against oxidative stress-triggered damage and cardiac cell death in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 140(1): 73-82

[8] Yan JJ, Duan JL, Wu X, et al. Total saponins from Aralia taibaiensis protect against myocardial ischemia/reperfusion injury through AMPK pathway[J]. Int J Mol Med, 2015, 36(6): 1538-1546

[9] Cui J, Xi M M, Li Y W, et al. Insulinotropic effect of Chikusetsu saponin IVa in diabetic rats and pancreatic beta-cells [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 164: 334-339

[10] Zhu W, Tian F J, Liu L Q. Chikusetsu（CHI）triggers mitochondria-regulated apoptosis in human prostate cancer via reactive oxygen species (ROS) production[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 90: 446-454

[11] 胡锦苹, 黎丹, 王小平, 等.藤珠胃康颗粒中 4 种皂苷成分的大鼠体内药代动力学研究[J]. 中南药学, 2017, 15(06): 790-793

[12] Shen H H. Core Concept: Circumventing the blood-brain barrier[J]. Proc Natl Acad Sci US A, 2017, 114(43): 11261-11263

[13] Mozaffarian D, Benjamin E J, Go A S, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association[J]. Circulation, 2016, 133(4): e38-e360

[14] Baker E N, Baker H M. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin [J]. Cell Mol Life Sci, 2005, 62 (22): 2531-2539

[15] Fillebeen C, Descamps L, Dehouck M P, et al. Receptor-mediated transcytosis of lactoferrin through the blood-brain barrier [J]. J Biol Chem, 1999, 274(11): 7011-7017

[16] Huang F Y, Chen W J, Lee W Y, et al. In vitro and in vivo evaluation of lactoferrin-conjugated liposomes as a novel carrier to improve the brain delivery[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(2): 2862-2874

[17] Kuo Y C, Cheng S J. Brain targeted delivery of carmustine using solid lipid nanoparticles modified with tamoxifen and lactoferrin for antitumor proliferation[J]. Int J Pharm, 2016, 499(1-2): 10-19

[18] Liu J, Cheng H, Han L, et al. Synergistic combination therapy of lung cancer using paclitaxel and triptolide-coloaded lipid-polymer hybrid nanoparticles[J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12(9): 3199-3209

[19] Song Z, Shi Y, Han Q, et al. Endothelial growth factor receptor-targeted and reactive oxygen species-responsive lung cancer therapy by docetaxel and resveratrol encapsulated lipid-polymer hybrid nanoparticles[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 105(9): 18-26

[20] Hadinoto K, Sundaresan A, Cheow W S. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: a review[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2013, 85(3 Pt A): 427-443

[21] Date T, Nimbalkar V, Kamat J, et al. Lipid-polymer hybrid nanocarriers for delivering cancer therapeutics [J]. J Control Release, 2018, 271: 60-73

[22] Li A, Yang F, Xin J, et al. An efficient and long-acting local anesthetic: ropivacaine-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles for the control of pain[J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14(1): 913-920

[23] Tang S, Wang A, Yan X, et al. Brain-targeted intranasal delivery of dopamine with borneol and lactoferrin co-modified nanoparticles for treating Parkinson's disease[J]. Drug Deliv, 2019, 26(1): 700-707

[24] Chen Y, Zhang M, Jin H, et al. Glioma Dual-Targeting Nanohybrid Protein Toxin Constructed by Intein-Mediated Site-Specific Ligation for Multistage Booster Delivery[J]. Theranostics, 2017, 7(14): 3489-3503

[25] Qiu J, Cai G, Liu X, et al. alphavbeta3 integrin receptor specific peptide modified, salvianolic acid B and panax notoginsenoside loaded nanomedicine for the combination therapy of acute myocardial ischemia[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 96(12): 1418-1426

[26] Shao M, Yang W, Han G. Protective effects on myocardial infarction model: delivery of schisandrin B using matrix metalloproteinase-sensitive peptide-modified, PEGylated lipid nanoparticles [J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12(9): 7121-7130

[27] 王伟影, 毛菊华, 余华丽, 等. 畲药山里黄根中竹节参皂苷Ⅳa 的含量测定[J].中国药师, 2015, 18(9): 1606-160

[28] 赵晖, 李佳, 刘南岑, 等. 竹节参总皂苷对大鼠局灶性脑梗死损伤及抗氧化酶活性的影响[J].中药新药与临床药理, 2007, 18 (6): 445-447

[29] 赵晖, 张秋霞, 穆阳. 竹节参总皂苷对局灶性脑梗死大鼠模型的保护作用[J].中国中医药信息杂志, 2005, 12(3): 43-44

[30] Quaglia A, Karlsson M, Larsson M, et al. Total lactate dehydrogenase in cerebrospinal fluid for identification of bacterial meningitis[J]. J Med Microbiol, 2013, 62(11): 1772-1773

[31] 章晨峰, 曹亮, 邓奕, 等. 银杏二萜内酯葡胺注射液对脑梗死再灌注大鼠行为学和脑脊液成分的影响[J].中国实验方剂学杂志, 2015, 21(20): 118-122