

- 2012, 12(32): 5450-5452.
- [36] 董莉, 姜琳, 孟炜, 等. 补肾解郁清心方对围绝经期抑郁症模型大鼠行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 63-65.
- [37] 梁尚华, 邹军, 陈慧娟, 等. 健脾益气中药对慢性应激大鼠HPA轴作用的实验研究[J]. 江苏中医药, 2006, 27(8): 54-56.
- [38] 苏奎国, 姜良铎, 郭勇英. 五紫三黄方对激素依赖性哮喘模型小鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能的影响[J]. 中医杂志, 2014, 55(2): 153-155.
- [39] 谈勇. 坤壶撷英—夏桂成妇科临证心悟[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 15-19.

难溶性中药增溶方法对体外药效学影响的研究进展

杨海跃^{1,2}, 余越^{1,3}, 林兵¹, 孙欣荣^{1,4}, 刘志宏¹, 宋洪涛^{1*}

(1. 福州总医院药学科, 福建 福州 350025; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361102; 3. 福建医科大学药学院, 福建 福州 350108; 4. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122)

摘要: 中药是我国传统医学的重要组成部分, 但部分中药存在成分复杂、水溶性差等问题, 给临床前研究, 尤其是体外药效学研究带来困扰。本文就目前体外药效学研究中难溶性中药或中药成分增溶方法或技术进行综述, 探讨其可行性及对中药药效行为的影响。

关键词: 难溶性中药; 增溶方法; 体外药效学研究

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-4528(2017)06-1248-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-4528.2017.06.030

中药在现代医疗保健中发挥着重要作用, 并逐渐被西方国家所接受, 被作为补充用药和首选替代用药^[1]。我国传统中药使用历史悠久, 疗效确切, 是中医治疗疾病的重要武器, 但是由于其药效成分和作用机制不明确而受到人们诟病, 故利用现代科学技术和方法阐明中药药效物质基础和作用机制是传统中药向现代新药研发的必由之路。

基于细胞模型的体外药效学研究和基于动物模型的体内药效学研究是中药临床前研究的主要手段, 但中药成分复杂, 水溶性差, 尤其是一些以脂溶性成分为主的药材(如雷公藤等)^[2], 在进行体外或体内药效学研究时由于溶解性问题而给溶液配制带来困扰, 故需要通过一些技术手段进行增溶, 以保证实验结果的准确性。目前, 关于中药增溶的文献较多, 但在细胞或动物药效学研究阶段, 这些方法或技术是否可行, 对实验结果是否有影响, 迄今尚无明确定论。

本文就目前难溶性中药或中药成分增溶方法以及增溶后对细胞或动物实验影响的有关文献进行综述, 探讨其可行性以及对中药药效行为的影响, 以期为难溶性中药的药效学研究提供参考。

1 中药难溶性成分增溶方法

1.1 增溶剂的应用 通过添加增溶剂以提高难溶性中药的

溶解度是目前较常用的办法, 具有操作简单、省时省力的优点。磷脂的主要成分磷脂酰胆碱为两性表面活性剂, 同时也是生物细胞膜的重要组成部分, 其分子中含有磷酸型阴离子和季铵盐型阳离子的极性部分, 以及2个非极性长碳氢链疏水基团, 使其具有极强的增溶乳化能力^[3]。Xu等^[4]向槲皮素中加入磷脂制成槲皮素磷脂混合物, 发现其在水中的溶解度为38.36 μg/mL, 而在氯仿中可达到1351.27 μg/mL, 与槲皮素原料药相比分别提高了3倍和734倍, 再进行了体外药效学研究, 发现其对ARPE-19细胞氧化应激损伤的修复作用增强, 促进细胞增殖, 抑制细胞程序性死亡, 但磷脂对照组则无此类作用, 表明溶解性增加后药效增强。虽然氧化苦参碱具有抗肿瘤等活性, 但溶解性较差, Yue等^[5]加入磷脂制成氧化苦参碱磷脂混合物后进行增溶, 发现肝癌细胞渗透率提高了10倍, 表明磷脂复合物不但可以提高氧化苦参碱在肝癌细胞基质中的溶解度, 同时也能提高药效作用。由此可见, 磷脂与难溶性中药复合形成载体系统或者复合物后, 可使磷脂的疏水性碳氢链形成疏水核心, 提高对脂溶性药物的亲和力, 并有效增加药物溶解度, 改善药物经胃肠道或经皮吸收, 进一步提高生物利用度^[6]。

除了磷脂外, 六磷酸肌醇也是具有增溶作用的增溶剂。

收稿日期: 2016-09-20

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2015J01491)

作者简介: 杨海跃(1993—), 女, 硕士生, 从事中药药理学研究。Tel: (0591) 22859972, E-mail: haiyueyang_cpu@163.com

* 通信作者: 宋洪涛(1968—), 男, 博士, 主任药师, 从事中药学、药剂学、临床药学研究。Tel: (0591) 22859459, E-mail: sohoto@

vip.163.com

1248

Xie等^[7]通过向沙棘鼠李糖中加入六磷酸肌醇进行增溶,利用Caco-2细胞模型评价六磷酸肌醇对沙棘鼠李糖主要成分(异鼠李黄素、槲皮素、山奈酚)的影响,发现各成分溶解度分别提高了22.75、15.15、12.86倍,同时吸收率分别增加了3.21、1.64、2.98倍,表明六磷酸肌醇能够显著提高难溶性成分的溶解度和渗透率。

吐温80又名聚山梨酯80,是一种亲水型非离子表面活性剂,为药物制剂中常用的辅料之一,由于其结构中具有较长的碳链结构,对亲脂性药物有较好的助溶作用,故在制备难溶性药物制剂时常用作助溶剂、乳化剂、稳定剂等^[8]。研究显示,吐温80在水溶液中形成胶束后,对长链难溶中药成分的增溶遵循相似相溶规律,整个中药分子可溶入其亲油核心中,从而发挥增溶作用,但吐温80对无长链的并环难溶中药成分的增溶效果一般,当环上极性基团较多时,极性基团被胶束核心排斥,此时其不宜作为增溶剂^[9]。丛英等^[9]报道,吐温80对穿心莲内酯、黄芩苷、芦丁、补骨脂素、五味子醇、柚皮素、阿魏酸以及橙花叔醇8种难溶中药成分都具有增溶能力,但存在差异,其中对长链成分橙花叔醇的增溶效果最显著,可达200倍以上。另外,吐温80还是中药注射剂中常用的增溶剂,具有增溶、稳定的作用,但使用不当易导致不良反应发生^[10],并且在中药提取物细胞或动物药理学研究中也常作为增溶剂使用。Sadasivan等^[11]研究水线草醇提物的保肝作用,以1%吐温80增溶,将醇提物制成混悬液,灌胃给药,实验结果良好。Venkatesan等^[12]研究总序天冬水提物和醇提物的止泻作用时,以0.5%吐温80增溶,发现呈剂量依赖性。Hammer等^[13]对茶树油的抗菌活性进行研究时,以0.1%的吐温进行增溶,发现对挥发油类成分增溶效果理想。

1.2 新型乳剂的应用

1.2.1 微乳 微乳又称纳米乳,是一种特殊的油水混合载药体系,主要由油相、水相、乳化剂和助乳化剂组成,具有热力学稳定、粒径小等特点,由于内部同时存在亲油和亲水区域,故具有增加难溶性成分溶解度、提高其生物利用度等优点^[14]。雷公藤多苷是以雷公藤经纯化后脂溶性成分为原料制成的中药制剂,具有显著的抗炎和免疫抑制作用,临床上用于治疗类风湿性关节炎、红斑狼疮、慢性肾炎和皮肤病等疾病^[15],但由于其水溶性差、生物利用度低,而且对肝脏、肾脏、生殖系统有毒性作用,从而限制了其临床应用,何欣等^[16]利用纳米乳包合技术将雷公藤多苷制成纳米乳,并进行增溶,再利用MTT法考察其对体外肝、肾细胞的毒性作用,发现雷公藤多苷制成纳米乳后溶解性显著改善,而且与雷公藤多苷片相比,肝、肾细胞毒性分别降低了2.65、3.16倍,表明将难溶性中药制备成微乳可以有效改善药物的溶解度和生物利用度,还具有一定增效减毒的作用。

1.2.2 自微乳 微乳给药系统是由油、乳化剂、助乳化剂和表面活性剂组成的热力学稳定的固体或液体混合体系,

药物被包裹在油中,经口服给药途径进入体内,经胃肠道蠕动搅拌遇体液自发分散形成O/W型微乳,从而提高了药物的溶解性和渗透性,同时通过增强淋巴运输过程避免首过效应而提高口服生物利用度^[17-18]。黄芩苷是黄芩的主要有效成分,具有抗炎、抗过敏等作用^[19-22],用于治疗肺炎、肝炎、心血管疾病和癌症等^[23-24],但其水溶性差,生物利用度低,影响了其成药性,Wu等^[25]将黄芩苷制成磷脂自微乳以改善其溶解度,并以Caco-2细胞模型对增溶效果进行考察,发现在磷脂混合物和黄芩苷自微乳给药系统的协同作用下,黄芩苷在水和辛醇中的溶解度显著提高,吸收能力有所增强。

1.3 纳米技术的应用 纳米粒常指1~100 nm的粒子,由于100 nm以下粒子的尺寸效应会改变理化性质和生物学性质,故也广泛应用于医药领域^[26]。随着纳米技术不断进步,其对中药制剂的发展起到了很好的促进作用,尤其是在改善中药溶解性、生物利用度以及不良反应方面,为中药研发提供了思路,拓宽了中药临床应用范围。

1.3.1 纳米粒 药物制成纳米粒后,能够隐藏自身理化性质,而在体内表现出载体的理化性质。纳米粒由于粒径小,表面积大,故药物可以高密度地装载在纳米材料表面,有利于增加药物接触面积,延长药物接触时间,从而改善其溶解度和口服吸收生物利用度^[27]。蟾蜍灵是一种对血癌、胃癌、前列腺癌以及卵巢癌有显著疗效的传统中药,但由于其毒性大、水溶性差、治疗窗窄而限制了临床应用,Yin等^[28]将其制成纳米粒,并利用CCK-8法考察对SW620细胞的影响,发现纳米粒可融入SW620结肠癌细胞中,而且药效更强。南蛇藤素又称为雷公藤红素,是一种具有抗炎和抑制血管发生作用的三萜类成分,药效较强,但水溶性差,Li等^[29]将其制成纳米粒,并考察对人类脐静脉血管内皮细胞增殖的影响,发现制成纳米粒后,南蛇藤素溶解度增加,增殖作用也有所提高。雄黄对人类多种恶性肿瘤(如白血病、肺癌和皮肤癌等)都具有好的疗效,但由于溶解度、生物利用度差等问题限制了其临床应用,Tian等^[30]将其制成雄黄纳米粒,不但显著改善了溶解度,而且与原料药相比,对人乳腺癌细胞MCF7、人肝癌细胞HepG2、人肺癌细胞A549的抑制作用更强。

1.3.2 脂质体 脂质体是磷脂等类脂质分散于水相中所形成的封闭微囊泡,每一层都是天然、可生物降解、无毒性的脂质双分子层,每层双分子之间被水相隔开^[31],可作为亲水性和亲油性药物的运载体,前者可被包围在水相内核中,而后者可被包围在脂质双分子层中。由于难溶性药物有效成分大多装载在脂质体中以增加其溶解性,脂质体具有提高药物溶解度和稳定性的特点^[32],而且还可以显著增加药物在体内的存留时间,改变药代动力学和生物分布,降低药物毒性,提高治疗效果。大黄素具有抗菌、抗肿瘤等广泛药理活性,但溶解度较低,Wang等^[33]将其制成D- α -生育酚聚乙二醇琥珀酸酯大黄素脂质体,可使大黄素溶解度显著提高,延长了在人体中的作用时间,增强了对白

血病的治疗效果。

1.4 包合物技术的应用 包合物是将药物分子包裹在另一物质分子结构空腔内而形成的包合体,常用的包合材料是环糊精及其衍生物,前者环糊精因其特殊的分子结构,可将客体疏水分子封装在疏水内部空腔,通过亲水性外表面来增加其溶解性^[34]。当归具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤作用,被视为安全的食物添加剂,常用作调料或者进行食补,Hsu等^[35]为了提高当归在水中的溶解度,通过冷冻干燥法将当归乙醇提取物(含阿魏酸、藁本内酯、丁烯基肽内酯等成分)封装在羟丙基-β-环糊精内腔中而形成环糊精包合物,可提高当归有效成分的水溶性和分散性,增加肝癌细胞对当归的摄取率,使其对 Hep3B 细胞作用增强,表现出更好的疗效,然后又以相同方法制备大黄羟丙基-β-环糊精包合物^[36],探究其对 Huh7 细胞和 HepG2 细胞的增殖影响,发现它可以提高大黄的溶解度和生物利用度,并增加对肝癌的治疗效果。

2 中药体外增溶研究中的问题

近年来,增溶剂、微乳、纳米技术、环糊精包合技术等增溶方法在难溶性中药的体外研究中有所应用,但这些方法不一定适用于所有中药,因为其相关增溶机制尚不清晰,并且每种方法都存在局限性。增溶剂作为首选的增溶方法,具有简单、便捷的优点,但对不同类型成分增溶效果的差别较大;微乳增溶法对组成成分(表面活性剂、油相、助表面活性剂)有更严苛的选择标准,必须无毒、无刺激性,而且彼此之间必须具有良好的相容性,这无疑会增加筛选的工作量;以纳米载体传递中药成分的研究仍然处于初期阶段,由于中药成分组成的复杂性,需要更有效的质量评估,尤其是评估载体的载药量和包封率,而且纳米载体的体内药代动力学研究影响因素复杂,代谢途径尚不清晰,无法确保临床应用中纳米载体的安全性^[37];对环糊精包合技术而言,不同的包合方法、包合温度、搅拌速率以及搅拌时间都会影响包合效率。另外,虽然通过增溶剂达到增溶效果操作简便、容易实现,但不同剂量对体外药效实验的影响不同,细胞毒性大小也尚不清楚,需要不停尝试以筛选出最佳用量。

3 小结及展望

目前,对体外药效学研究尚无明确定论,无法获悉这些技术、方法或者增溶剂对实验本身是否有影响。本文综述了现已发表的有关难溶性药物或中药采用相关增溶方法或增溶剂后进行体外研究的报道,在以后研究中可对其进行尝试,选择相适应的制备技术并辅以适当剂型,或者多种方法联合应用、制备混合溶剂等^[38],可能会有效改善局限性问题,提高难溶性中药的临床应用。在进行体外药效学研究时,建议优先选择操作简便、容易实现的增溶剂增溶法,如果无法达到理想效果,再辅以适当的剂型以达到实验目的。

在未来,加快增溶技术或者增溶剂的机制研究显得尤为重要,这将有助于推动增溶技术在中药制剂的发展,对

促进中药最大化发挥自身优势具有重要意义。

参考文献:

- [1] Williamson E M, Lorenc A, Booker A, et al. The rise of traditional Chinese medicine and its materia medica: a comparison of the frequency and safety of materials and species used in Europe and China[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(2): 453-462.
- [2] 何欣, 欧阳五庆, 许利耕, 等. 雷公藤多甙纳米乳的抗炎及免疫抑制试验[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, 36(2): 67-71.
- [3] 田季雨, 刘澎湃, 李斌. 银杏叶提取物化学成分及药理活性研究进展[J]. 国际中医中药杂志, 2004, 26(3): 142-145.
- [4] Xu X R, Yu H T, Yang Y, et al. Quercetin phospholipid complex significantly protects against oxidative injury in ARPE-19 cells associated with activation of Nrf2 pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 770: 1-8.
- [5] Yue P F, Yuan H L, Li X Y, et al. Process optimization, characterization and evaluation in vivo of oxymatrine-phospholipid complex[J]. *Int J Pharm*, 2010, 387(1-2): 139-146.
- [6] 林东海, 李苹, 李新欣, 等. 胆盐/磷脂混合胶束对疏水性天然药物增溶性能的研究[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(8): 27-30.
- [7] Xie Y, Luo H, Duan J, et al. Phytic acid enhances the oral absorption of isorhamnetin, quercetin, and kaempferol in total flavones of *Hippophae rhamnoides* L. [J]. *Fitoterapia*, 2014, 93(4): 216-225.
- [8] 吴毅, 金少鸿. 药用辅料吐温 80 的药理、药动学及分析方法研究进展[J]. 中国药事, 2008, 22(8): 717-720.
- [9] 丛英, 张明令, 苏柘瑾, 等. 中药注射剂用辅料“吐温 80”的增溶适宜性研究[J]. 中成药, 2011, 33(3): 439-442.
- [10] 马鸿雁, 李霞, 张海燕, 等. 中药注射剂增溶辅料吐温-80 物理化学性能研究进展[J]. 中国药事, 2010, 24(6): 594-596.
- [11] Sadasivan S, Latha P G, Sasikumar J M, et al. Hepatoprotective studies on *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam[J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 106(2): 245-249.
- [12] Venkatesan N, Thiyagarajan V, Narayanan S, et al. Anti-diarrhoeal potential of *Asparagus racemosus* wild root extracts in laboratory animals [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2005, 8(1): 39-46.
- [13] Hammer K A, Carson C F, Riley T V. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 53(6): 1081-1085.
- [14] 贺俊杰, 陈彦, 杜萌, 等. 灵芝多组分微乳一步制备方法的探索[J]. 药学学报, 2013, 48(3): 441-446.
- [15] 何欣, 欧阳五庆, 赵兴华, 等. 纳米乳对雷公藤多苷增效减毒作用研究[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2008, 34(3): 261-265.
- [16] 何欣, 赵兴华, 欧阳五庆. 雷公藤多苷纳米乳体外肝肾的

- 细胞毒性[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24(6): 476-480.
- [17] Gurram A K, Deshpande P B, Kar S S, et al. Role of components in the formation of self-microemulsifying drug delivery systems[J]. *Indian J Pharm Sci*, 2015, 77(3): 249-257.
- [18] 徐俊, 黄榕, 杨于嘉, 等. 黄芩苷对自身免疫性脑脊髓炎大鼠细胞凋亡的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(8): 665-668.
- [19] Kim S J, Lee S M. Effect of baicalin on toll-like receptor 4-mediated ischemia/reperfusion inflammatory responses in alcoholic fatty liver condition[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 258(1): 43-50.
- [20] Sahebkar A. Baicalin as a potentially promising drug for the management of sulfur mustard induced cutaneous complications: a review of molecular mechanisms[J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2012, 31(3): 226-234.
- [21] Takahashi H, Chen M C, Pham H, et al. Baicalein, a component of *Scutellaria baicalensis*, induces apoptosis by Mcl-1 down-regulation in human pancreatic cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(8): 1465-1474.
- [22] Yang J, Yang X, Chu Y, et al. Identification of baicalin as an immunoregulatory compound by controlling T(H)17 cell differentiation[J]. *PLoS One*, 2012, 6(2): e17164.
- [23] Min L W. New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of *Scutellaria*, and its main active constituents wogonin, baicalein and baicalin[J]. *Cancer Treat Rev*, 2009, 35(1): 57-68.
- [24] Zhang H, Jiao Q, Gong Q, et al. Baicalin induced dendritic cell apoptosis *in vitro* [J]. *Front Pharmacol*, 2011, 2: 1-6.
- [25] Wu H, Long X, Fei Y, et al. Combined use of phospholipid complexes and self-emulsifying microemulsions for improving the oral absorption of a BCS class IV compound, baicalin[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2014, 4(3): 217-226.
- [26] Brambilla D, Luciani P, Leroux J C. Breakthrough discoveries in drug delivery technologies: The next 30 years[J]. *J Controlled Release*, 2014, 190: 9-14.
- [27] 徐辉碧, 杨祥良, 谢长生, 等. 纳米技术在中药研究中的应用[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 161-165.
- [28] Yin P, Wang Y, Qiu Y, et al. Bufalin-loaded mPEG-PLGA-PLL-cRGD nanoparticles: preparation, cellular uptake, tissue distribution, and anticancer activity[J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7(2): 3961-3969.
- [29] Li Z, Yao L, Li J, et al. Celastrol nanoparticles inhibit corneal neovascularization induced by suturing in rats [J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7(9): 1163-1173.
- [30] Tian Y, Wang X, Xi R, et al. Enhanced antitumor activity of realgar mediated by milling it to nanosize[J]. *Int J Nanomed*, 2014, 9(1): 745-757.
- [31] Gharib R, Greige-Gerges H, Fourmentin S, et al. Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes: Current state of knowledge [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 129: 175-186.
- [32] Yu J N, Zhu Y, Wang L, et al. Enhancement of oral bioavailability of the poorly water-soluble drug silybin by sodium cholate/phospholipid-mixed micelles [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(6): 759-764.
- [33] Wang T, Yin X, Lu Y, et al. Formulation, antileukemia mechanism, pharmacokinetics, and biodistribution of a novel liposomal emodin[J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7(5): 2325-2337.
- [34] 赵雯, 张宏, 卢婷利, 等. 水难溶性药物的载体材料研究进展[J]. 材料导报, 2010, 4(9): 67-70.
- [35] Hsu C M, Tsai F J, Tsai Y. Inhibitory effect of *Angelica sinensis*, extract in the presence of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 114: 115-122.
- [36] Hsu C M, Yu S C, Tsai F J, et al. Enhancement of rhubarb extract solubility and bioactivity by 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(2): 1422-1429.
- [37] Ying L, Feng N. Nanocarriers for the delivery of active ingredients and fractions extracted from natural products used in traditional Chinese medicine (TCM) [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2015, 221: 60-76.
- [38] 吴佩颖, 徐莲英, 陶建生. 难溶性药物增溶方法研究进展[J]. 中成药, 2005, 27(9): 1126-1129.