

糖基化改性甜菊苷、橙皮苷及芦丁苷作为新型药物载体的研究与应用

汪胡芳, 莫丽英, 王杏利, 赵笛, 吴春勇, 林以宁*, 张峻颖*

(中国药科大学 中药学院, 药学院, 南京 211198)

[摘要] 新型药物载体的开发对药物制剂的研究起到重要作用,随着纳米技术的发展以及药物载体研究的深入,基于糖基化改性的食品添加剂作为药物载体的研究受到了广泛关注。近年来用作药物载体的糖基化改性食品添加剂主要包括糖基化改性甜菊苷(St-G),糖基化改性橙皮苷(Hsp-G)及糖基化改性芦丁苷(Rut-G)。甜菊苷、橙皮苷、芦丁自身具有良好的生物活性与保健功能,作为食品添加剂被广泛应用于食品工业中,但存在味质差或者溶解度低等缺点,通过糖基化改性能够增加甜菊苷、橙皮苷、芦丁结构和功能的多样性,使其在水中能够自组装形成不同聚集数的核-壳纳米结构。因此将糖基化改性食品添加剂作为药物载体具有独特的优点,可使难溶性药物有效增溶,提高生物利用度,同时具有良好的安全性。本文综述了这3种糖基化改性食品添加剂的特点和生物安全性、生物合成方法及其作为药物载体的应用情况,为其在医药领域的应用研究提供新方法和新思路。

[关键词] 糖基化改性; 甜菊苷; 橙皮苷; 芦丁; 药物载体; 食品添加剂; 生物利用度

[中图分类号] G353.11;R283.6;R945;R284;R914 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)23-0220-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017230220

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170912.1146.004.html>

[网络出版时间] 2017-09-12 11:46

Research Advances in Application of Transglycosylated Stevioside, Hesperidin and Rutin as New Drug Carrier Materials

WANG Hu-fang, MO Li-ying, WANG Xing-li, ZHAO Di, WU Chun-yong,

LIN Yi-ning*, ZHANG Jun-ying*

(School of Traditional Chinese Pharmacy, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] The development of new drug carriers plays an important role in the research of pharmaceutical preparations, with the rapid development of nanotechnology and in-depth understanding of drug carrier. The glycosylation of food additives as a drug carrier research has received extensive attention. In recent years, glycosylated stevioside, glycosylated hesperidin and glycosylated rutin have become research focus. Stevioside, hesperidin and rutin as food additive are widely used in the food industry, they have good biological activity and health function with poor taste and low solubility. Glycosylation modification can increase diversity of their structure and function, so that they can self-assemble in water to form core-shell nano-structure with different aggregation number. Transglycosylated food additives as new drug carriers can increase the solubility of the drug and enhance the bioavailability with good safety. In this paper, the properties and biological safety, biosynthesis method and

[收稿日期] 20170512(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473357);中央高校基本科研业务费项目(2015PT062);药物质量与安全预警教育部重点实验室项目(DQCP2015MS07)

[第一作者] 汪胡芳,在读硕士,从事中药新剂型及质量分析研究,Tel:18360860180,E-mail:whf12251216@163.com

[通讯作者] *张峻颖,博士,副教授,从事药物新剂型新工艺研究,Tel:025-86185126,E-mail:ivy366300@hotmail.com;

*林以宁,博士,副教授,从事中药制剂研究,Tel:025-86185126,E-mail:lynzyb@163.com

transglycosylated food additives as well as their application in new drug carrier materials were reviewed so as to provide new method and new thinking for its application in the field of medicine.

[**Key words**] glycosylation modification; stevioside; hesperidin; rutin; drug carrier; food additives; bioavailability

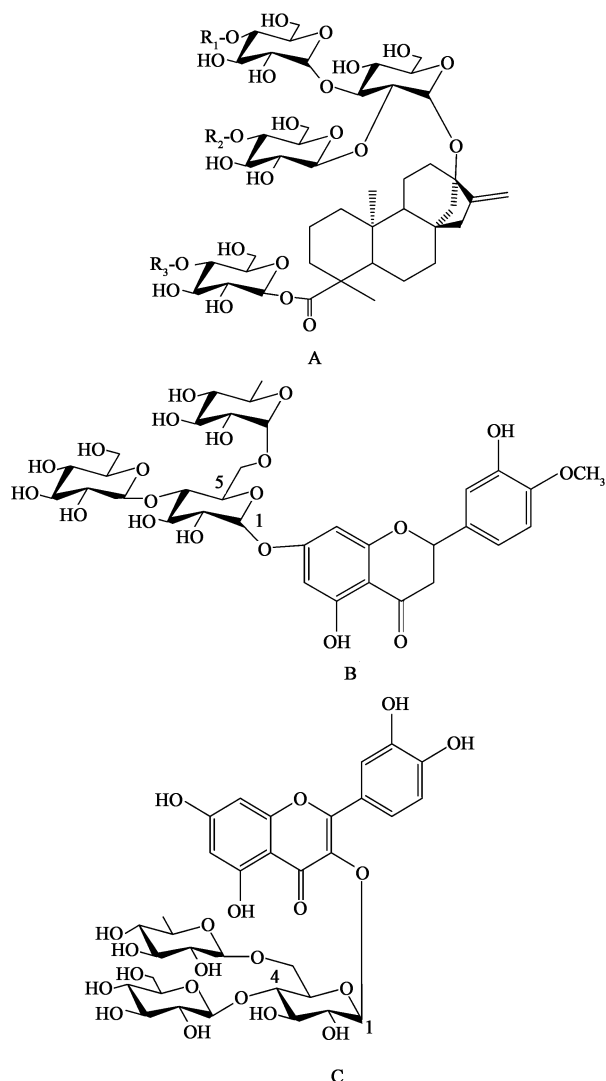
糖基化改性食品添加剂是近几年发展起来的一种新型药物载体,具备纳米材料的特性,不仅水溶性好、安全性高、易于合成,能够形成较为独特的核-壳结构,其自身还具备功能保健作用,能矫味,是一种很有潜力的药物载体^[1-6]。目前已开发的糖基化改性食品添加剂包括糖基化改性甜菊苷、糖基化改性橙皮苷及糖基化改性芦丁苷。本文综述了这 3 种糖基化改性食品添加剂的特点,生物安全性,合成方法,载药后药物的溶解性、生物利用度、药理活性及其他理化性质的变化,为难溶性药物的研究与开发提供思路与方法,也为后续开发此类药物载体提供参考。

1 糖基化改性甜菊苷、橙皮苷及芦丁苷的特点

近年来,甜菊苷、橙皮苷、芦丁作为食品添加剂已被广泛应用于食品工业中,但存在味质差或者溶解度低等缺点。研究发现,通过糖基化改性能在甜菊苷、橙皮苷、芦丁的分子结构中引入葡萄糖单元,使得其理化性质和生理功能更加优越,水溶性大幅度提高,其中糖基化改性甜菊苷(St-G)消除了后苦涩味,可以作为矫味剂使用,且不会引起血糖的升高^[7];糖基化改性橙皮苷(Hsp-G)与糖基化改性芦丁苷(Rut-G)保留了生物活性,是良好的抗氧化剂^[8-10]。日本学者创新性地将糖基化改性食品添加剂用作药物载体,发现在水性环境中,糖基化改性食品添加剂能够形成与表面活性剂相似的结构,且通过固体分散技术即可实现有效增溶^[11-13]。

3 种糖基化改性食品添加剂 St-G, Hsp-G, Rut-G 的结构见图 1,其分子结构可划分为疏水区 and 亲水区。Uchiyama 等^[14]利用荧光法测出 St-G 在水中能形成聚集数为 15 的胶束,临界胶束浓度(critical micelle concentration, CMC)为 $16.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。ZHANG 等^[11]运用核磁共振(NMR)中化学位移的变化计算出 St-G 的 CMC 为 $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,当质量浓度低于 CMC 时,聚集数为 2;当质量浓度高于 CMC 时,聚集数为 12。动态光散射实验测得随着 St-G 浓度的增加,其粒径由 1.8 nm 增加至 3 nm ,再次证实聚集体的形成。ZHANG 等^[12]采用 NMR 技术得 Hsp-G 的 CMC 为 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,聚集数为 4, $2\text{D}^1\text{H}-^1\text{H}$ NOESY 实验进一步证实 Hsp-G 形成了壳-核状胶束。Tozuka 等^[15]报

道了 Hsp-G 在水中表现出微弱的表面活性,表面张力由 $71 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ 降低至 $65 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$,推测由于 Hsp-G 的亲水端结构过于膨大而阻碍其在液面的聚集。Tozuka 等^[13]通过 $^1\text{H-NMR}$ 测得 Rut-G 的 CMC 为 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,当溶液质量浓度低于 CMC 时,聚集数为 2,反之为 4。基于上述特点,当 St-G, Hsp-G 及 Rut-G 用于载药,低质量浓度时药物与 St-G, Hsp-G 及 Rut-G 能够形成类似“三明治模型”的二聚体^[16];质量浓度增大时难溶性药物进入胶束的疏水空腔中,聚集数增大^[11-13]。



A. 糖基化改性甜菊苷; B. 糖基化改性橙皮苷; C. 糖基化改性芦丁苷
图 1 糖基化改性食品添加剂的结构式

Fig. 1 Structures of transglycosylated food additives

2 St-G, Hsp-G 及 Rut-G 的生物安全性

将糖基化改性食品添加剂应用于临床,需要进行广泛的体外和体内研究,而其生物相容性和毒性可通过细胞和动物模型予以考察及评价。甜菊苷、橙皮苷、芦丁均被美国食品药品监督管理局(FDA)的食品添加剂数据库收载,安全价廉且来源广泛,而酶法糖基化的过程更接近自然界,故 FDA 已将糖基化改性食品添加剂列入安全产品目录^[17]。进一步研究表明,St-G, Hsp-G 及 Rut-G 具有优异的安全性和生物相容性^[11-13,18]。

有研究利用人克隆结肠腺癌 Caco-2 细胞,通过体外细胞毒性实验对 St-G 和 Hsp-G 的毒性进行了评价^[11,19],结果发现质量分数为 10% 的 St-G 和 Hsp-G 对 Caco-2 没有细胞毒性,而质量分数仅 0.1% 的十二烷基硫酸钠(SDS)则能使细胞活力显著降低。Tozuka 等^[13]通过体外细胞毒性实验评价 Rut-G,结果表明 100 g·L⁻¹ Rut-G 对 Caco-2 细胞活力没有降低作用,而 1.0 g·L⁻¹ SDS 则可显著降低细胞活力。

Markosyan^[20]报道了 St-G 组合物可作为甜味剂应用于药物、食品、饮料、化妆品。Hijiya 等^[21]对 dd-小鼠口服给予不同浓度的 Hsp-G,评价 Hsp-G 对 dd-小鼠的急性毒性。结果发现剂量在 0~5 g·kg⁻¹ 时,Hsp-G 对 dd-小鼠没有影响,说明 Hsp-G 具有非常好的生物安全性。康维民等^[22]对大鼠口服给予 Hsp-G 进行急性毒性实验,结果表明 Hsp-G 的半数致死量 > 2 g·kg⁻¹,且污染物致突变性检测(Ames 试验)呈阴性结果。Tanaka 等^[23]评估了健康成年人长期摄入含有过量 Hsp-G 饮料的安全性。试验饮料每 500 mL 中含有 Hsp-G 1.03 g。44 名健康成年人每天给予 1 瓶饮料,持续 4 周。结果 34 名受试者(男性和女性各 17 名)在整个试验中生理及生物化学参数没有发现异常。说明与传统表面活性剂和高分子材料相比,St-G, Hsp-G 及 Rut-G 是更加安全的药物载体。

3 St-G, Hsp-G 及 Rut-G 的酶法合成

糖基化是自然界存在的重要生物修饰反应,利用化学合成和生物合成方法都可以实现定向糖基化^[24]。如图 2 所示^[12],对食品添加剂改性合成两亲性分子,其中疏水区为食品添加剂的骨架,亲水区为葡萄糖链,可实现难溶性药物的高效包载。与化学合成相比,生物合成具有高效、立体专一性、反应可调控、易于工业化等特点,并且反应条件温和、成本低、污染小、副产物少^[25]。生物合成方法包括基

因工程法和酶法糖基化。其中酶法糖基化是糖基化的重要策略,通过在体外提供糖基供体及糖基转移酶(glycosyltransferase, GTs)进行反应。酶法糖基化中用于合成的酶有糖苷酶、糖基合成酶及 GTs。自然界中糖苷的合成主要靠 GTs 来完成,其可直接将糖基由其供体转移到受体上形成糖苷键,不会引起底物或者产物的水解^[26];具有较强的底物专一性^[27],少数 GTs 具有较好的底物宽泛性。目前常见的 GTs 主要是环状糊精葡萄糖基转移酶(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase),CGTase 应用较为广泛,可用来对食品添加剂和食品功能性成分如甜菊苷、橙皮苷、芦丁、抗坏血酸、硫酸胺、斯替夫苷等进行糖基化改性,从而改善这些成分的理化性质和生物学性质^[28-29]。

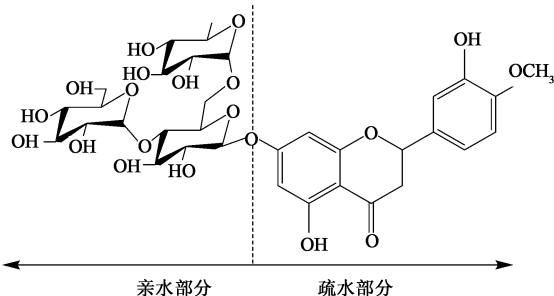


图 2 糖基化改性食品添加剂的设计示意

Fig. 2 Design of transglycosylated food additives

酶法糖基化能够去除甜菊糖的后苦涩味,主要包括环糊精葡萄糖基转移酶(CGTase)法、葡萄糖基转移酶法、微生物糖基化法和 β -呋喃果糖苷酶法等^[30-37]。虽然多种糖基转移酶(GTs)可以用于甜菊糖的糖基化反应,但 CGTase 由于易得且具有高催化活性,从而具有工业化的潜质。Abelyan 等^[38]利用 CGTase 对甜菊糖中的莱鲍迪苷 A 进行酶法糖基化得到 St-G,与骨架分子相比,St-G 的糖链上多了 2 个葡萄糖单元,改善了甜菊苷的水溶性,不仅更适合于制剂中的掩味,也使 St-G 具备了作为药物载体的潜力。Kochikian 等^[39]利用 *Bacillus stearothermophilus* B-5076 产生的 CGTase,将淀粉作为供体制备糖基化改性甜菊苷和糖基化莱鲍迪苷 A。这种方法可以不经提取直接对甜菊糖中甜菊苷和莱鲍迪苷 A 进行选择性的糖基化。Abelian 等^[40]利用 β -环糊精作为供体与多种微生物来源的 CGTase 制备 St-G,在得到的 9 种产物中,4''-O- α -D-葡萄糖基-甜菊苷和 4'''-O- α -D-葡萄糖基-甜菊苷具有较好的口味。Jaitak 等^[33]将来源于 *Bacillus firmus* 的 β -CGTase 对甜菊苷进行糖基化,采用超声和微波辅助反应能够在 1 min

内完成转糖基化,得到 4'-O- α -D-葡萄糖苷-甜菊苷和 4''-O- α -D-麦芽糖基-甜菊苷。万会达等^[41]以玉米淀粉水解液为糖基供体,利用来源于 *Paneibacillus macerans* JFB05-01 的 α -CGTase 催化甜菊苷的糖基化。St-G 的产率 32.4%,且 St-G 的溶解度大大提高,后苦涩味明显降低。随着对酶法糖基化机制的深入研究,有望能够实现从分子层面对甜菊糖的定向设计与改造,从而得到更多功能性甜菊糖衍生物。

橙皮苷水溶性差(溶解度 $0.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),在胃酸中易水解。近年来国内外研究者通过化学合成(如酸解、甲基化、磺化、金属螯合等)和酶法糖基化对橙皮苷进行改性^[42]。化学合成存在选择性差、反应副产物多、反应条件剧烈、会对环境造成污染等问题,故而较为少用。1990 年日本林原生物化学研究所与日本东洋精糖股份有限公司将橙皮苷通过酶法糖基化制成 Hsp-G 并实现规模化生产^[43]。其中 GTs 为 CGTase,得到的 α -G 橙皮苷 PA 与 α -G 橙皮苷 H 水溶性(溶解度 $250 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)与稳定性大大增强,产率分别达到 85% 与 34%,不仅可以抑制黑色素生成,还可增加难溶性黄酮类药物的溶解度。盛占武等^[44]以橙皮苷为原料,利用响应面法优化 CGTase 改性橙皮苷的工艺条件,在最佳反应条件下橙皮苷转化率高达 79.79%。Kometani 等^[45]以来源于嗜碱芽孢杆菌的 CGTase 对橙皮苷进行糖基化改性,Hsp-G 自身的溶解度相比之前提高了 300 倍。Hsp-G 与骨架分子相比其糖链上 5 号位置多了 1 个葡萄糖单元,使得水溶性大大增加,可以更好地应用于食品与药品领域。

芦丁的水溶性差,且在水溶液中的稳定性不好。研究者利用 CGTase 对芦丁进行酶法糖基化改性,得到的 Rut-G 水溶性约提高了 4×10^4 倍,在水溶液中的稳定性也得到提高^[46]。孙涛^[29]利用 *Bacillus sp.* SK13.002 产生的 CGTase 对芦丁进行酶法糖基化改性,对主要的酶反应条件进行了研究,得到优化后的酶反应条件为 pH 5.5,温度 35 $^{\circ}\text{C}$,加酶量为每 1 mL 反应体系 20 U,反应时间 24 h,在此条件下,芦丁的转化率高达 65.7%。研究还表明特定功率的微波辐射可以极大地提高芦丁糖基化的反应速率,为芦丁糖基化改性的实用化开辟了一条新途径。经酶法糖基化制备所得 Rut-G 在 4 号位置糖链上增加 1 个新的葡萄糖单元。

4 St-G,Hsp-G 及 Rut-G 作为新型药物载体的应用

近年来用作药物载体的糖基化改性食品添加剂

的研究主要围绕 St-G,Hsp-G 及 Rut-G 进行。日本学者发现 St-G,Hsp-G 与 Rut-G 等能够显著改善一些难溶性药物的溶解性质、溶出速率和生物利用度等^[11-13,19],在医药领域具有极大的应用价值。

4.1 St-G 氟比洛芬(flurbiprofen,FP)和普罗布考(probucol,PRO)在生物药剂学分类系统里属于 II 类药物。PRO 在水中的溶解度仅 $2 \sim 5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (温度 25 $^{\circ}\text{C}$);FP 属于弱酸性药物,在水中难溶。Uchiyama 等^[19]运用喷雾干燥法分别制备了 FP 和 PRO 与 St-G 的固体分散体(solid dispersions,SDPs),SDPs 中 FP 与 PRO 的表观溶解度分别达到 $6.7,55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。药动学数据表明 FP/St-G-SDPs 的最大血药浓度(C_{max})和药时曲线下面积(AUC)相比对照组分别增加了 2.2 倍和 2.6 倍,而 PRO/St-G-SDPs 的 C_{max} 和 AUC 分别增加了 9 倍和 10 倍。

姜黄素(curcumin,CUR)在生物药剂学分类系统中属于 IV 类。研究表明 CUR 在碱性溶液中不稳定、水溶性差、生物利用度低,限制了 CUR 药效的发挥^[47]。Kadota 等^[1]将 St-G 和聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone,PVP)共同作为载体,运用冷冻干燥法制备 SDPs。结果发现 CUR 的表观溶解度提高了 13 000 倍,远高于一般纳米材料载体。扫描电子显微镜、差示热分析和 X 射线衍射等结果均显示 CUR 以无定形状态均匀分散在 SDPs 中。此三元体系经高温及光照加速试验后,CUR 的溶解性质、结晶度等指标无显著性变化。大鼠口服 SDPs 后 CUR 的 AUC 是原料药的 6.7 倍。

蜂胶是一种极为稀少的天然资源,但其水溶性及分散性差,导致活性成分的生物利用度很低^[48]。Tozuka 等^[49]将 St-G 与蜂胶乙醇提取物制备冷冻干粉制剂,分别考察主要活性成分阿特匹林 C 和 drupanin 的溶出行为与体内吸收。阿特匹林 C 和 drupanin 在水中的累积溶出量 180 min 后分别达到 $80,120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,远高于对照组。阿特匹林 C 和 drupanin 在大鼠体内的口服生物利用度显著提高,AUC 分别增加了 6.4 倍与 4.5 倍,体外溶出行为与大鼠的体内吸收有较好的相关性。

Uchiyama 等^[14]采用喷雾干燥法制备 St-G 与吡罗美辛(indomethacin,IND)的 SDPs,扫描电子显微镜、动态光散射实验表明所得 SDPs 的平均粒径 $3 \mu\text{m}$,且呈球状。粉末 X 射线衍射结果表明 IND 以无定形状态分散在 St-G 中。在水中孵育 1 周后,SDPs 与物理混合物中 IND 的溶出速率显著增加,累积溶出量比对照组分别增加了 5.0 倍和 1.2 倍,且

物理混合物所含 IND 在水中的溶解度随着 St-G 用量的增加而增加。ZHANG 等^[11]采用喷雾干燥法制备 St-G 与柚皮素(naringenin, NRG)的 SDPs, 结果表明 SDPs 的表观溶解度相比 NRG 原料药增加了 36 倍, NRG 与 St-G 形成的疏水核存在氢键和疏水作用, 从而增加了溶解度。

Fujimori 等^[2]向 St-G 溶液中分别加入 4 种表面活性剂, 采用喷雾干燥法分别制备 SDPs, 研究 St-G 与表面活性剂对甲芬那酸(mefenamic acid, MFA)的协同增溶作用。4 种表面活性剂分别为 SDS, *N*-十二烷基肌氨酸钠(SLAS), 磷酸单十二烷基酯钠盐(SMP)和月桂基三甲基氯化铵(LTAC)。结果表明 St-G 与表面活性剂能够形成混合胶束, 增溶作用显著优于二元系统, MFA/St-G/LTAC-SDPs, MFA/St-G/SMP-SDPs, MFA/St-G/SLAC-SDPs, MFA/St-G/SDS-SDPs 的表观溶解度分别增加了 55.6, 38.9, 36.0, 23.3 倍。根据 Rubingh 模型计算出 St-G 与 LTAC 最佳摩尔比为 3:2, MFA/St-G/LTAC-SDPs 在 120 min 内的累积溶出量增加了 6 倍。

4.2 Hsp-G Uchiyama 等^[19,50]运用喷雾干燥法制备 Hsp-G/FP-SDPs 与羟丙基甲基纤维素(HPMC)/FP-SDPs。结果表明 Hsp-G/FP-SDPs 在 pH 1.2 盐酸溶液中在 180 min 内的累积溶出量比原料药增大了 10 倍, 且增溶倍数大于 HPMC/FP-SDPs。FP 在水中溶解度增加的顺序为 FP < FP/St-G-SDPs < Hsp-G/FP-SDPs, 表明不同的糖基化载体与药物之间相互作用不同, 使得其对药物的溶解行为的影响也会不同。大鼠药代动力学研究表明 Hsp-G/FP-SDPs 的 C_{max} 和 AUC 与对照组相比分别增加了 2.5 倍和 2.8 倍。

Tozuka 等^[51]将 Hsp-G 作为药用载体来增加难溶性药物 MFA, 苯扎贝特, 呋塞米和格列本脲(glibenclamide, GCM)的溶解性和溶出速率。粒径测定结果显示各种药物与 Hsp-G 研磨混合物的平均粒径随着质量比的变化而变化, 在一定条件下平均粒径达到亚微米级且保持不变。扫描电子显微镜与粉末 X 射线衍射结果提示各种药物的研磨混合物中大部分药物晶体转化为无定形状态, MFA, GCM 与 Hsp-G 的研磨混合物在 24 h 内能够 100% 溶出。研究进一步表明 GCM 与 Hsp-G 的研磨混合物的药效比 GCM 胶囊及其物理混合物分别增加了 6 倍和 2 倍。

普鲁司特半水合物(pranlukast hemihydrate, PLH)是一种抗哮喘药。Uchiyama 等^[52]利用高压均

质机制备 Hsp-G 与 PLH 的 SDPs, 改善了 PLH 的溶解性和体内吸收。PLH 的表观溶解度比原料药至少高出 2.5 倍, 当 PLH 与 Hsp-G 质量比为 1:10 时, PLH 的 C_{max} 和生物利用度分别增加了 3.9 倍和 2.2 倍。Kadota 等^[3]通过溶剂法制备 Hsp-G, PVP K-30 与 CUR 的三元体系 SDPs。三元体系中 CUR 的表观溶解度提高了 2 600 倍, 且在 24 h 内保持稳定, 扫描电子显微镜及差示热分析结果表明 CUR 以无定形状态存在于三元体系中。

NRG 属于二氢黄酮类化合物, 与 Hsp-G 骨架相似。Tozuka 等^[15]运用喷雾干燥法制备 NRG/Hsp-G-SDPs, 研究表明该 SDPs 为 3~4 μm 的球形颗粒, NRG 以无定形状态分散于 Hsp-G 中。当 Hsp-G 与 NRG 质量比为 20:1 时, SDPs 的表观溶解度高达 NRG 原料药的 60 倍, 并且随着质量比的增加, NRG 的表观溶解度相应增加。将 NRG/Hsp-G-SDPs 放置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 的密闭容器 180 d, 经 X 射线衍射和溶出度测定发现结果无明显变化, 说明 NRG/Hsp-G-SDPs 的稳定性较好。ZHANG 等^[12]采用喷雾干燥法制备 NRG/Hsp-G-SDPs 与 FP/Hsp-G-SDPs, 利用 NMR 探讨了 Hsp-G 与药物的相互作用。结果表明 SDPs 中 FP 与 NRG 的表观溶解度分别增加了 30 倍和 12.25 倍, FP 与 NRG 通过氢键和疏水作用进入 Hsp-G 形成的空腔结构中, 由于 NRG 的骨架结构与 Hsp-G 相似, 因此 NRG 的增溶作用优于 FP。一系列实验均表明 Hsp-G 作为药物载体具有无限的潜力。

4.3 Rut-G 曲尼司特是一种过敏介质阻滞剂, 但由于存在低溶解度、高亲脂性(油水分配系数对数值 $\lg P = 3.17$)等问题, 故而限制了其广泛应用^[53]。Sato 等^[4]将 Rut-G 与曲尼司特用喷雾干燥法制备 SDPs。动态光散射和扫描电子显微镜显示所得 SDPs 呈 5.5 μm 的球状。大鼠口服实验表明 SDPs 中曲尼司特的 C_{max} 和 AUC 较对照组分别增加了 114 倍和 36.4 倍, 表观溶解度也提高了 32 倍。

叶酸(folic acid, FA)是机体细胞生长和繁殖所必须的物质, 但 FA 难溶于水(溶解度 $< 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 在体内生物利用度很低。Kadota 等^[8]运用湿法球磨技术将具有抗氧化活性的 Hsp-G 与 Rut-G 分别制备具有高度分散性和光稳定性的 FA 的纳米粒。将抗氧化剂维生素 C 作为对照, 采用 DPPH 自由基清除法测定 Hsp-G 与 Rut-G 的自由基清除能力, Hsp-G, Rut-G 与维生素 C 达到 50% 抗氧化作用的浓度分别为 11.2, 175.8, 13.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 表明 Rut-G 具有较高的抗氧化活性从而抑制 FA 的光降解。将

Hsp-G, Rut-G, PVP, 维生素 C 同时采用湿法球磨技术制备纳米粒, 结果发现 PVP 不能阻止 FA 分子的聚集, FA 分子大多数呈晶体状态, FA 也不能溶于维生素 C 溶液中, 导致无法制备纳米粒。而 FA 与 Hsp-G, Rut-G 质量比为 1:10 时, 均能够形成粒径 < 100 nm 的纳米粒, 而且纳米粒的光稳定性良好。

Tozuka 等^[13]报道, FP 与 Rut-G 的物理混合物中, FP 溶出量达到 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上, 且与 Rut-G 投料比呈线性关系增加 ($R^2 > 0.99$)。进一步通过喷雾干燥技术制备 FP/Rut-G-SDPs, 动态光散射和扫描电子显微镜显示所得 SDPs 为微米级的颗粒。SDPs 相比 FP 原料药表现出更高的溶出速率与生物利用度, 3 h 内累积溶出量增加 3.7 倍, AUC 增加 2.2 倍。

Fujimori 等^[5]将 St-G, Hsp-G, Rut-G 分别与依普黄酮 (ipriflavone, IPR) 制备 SDPs, 研究结果表明 3 种 SDPs 中 IPR 的表观溶解度大大增加。值得注意的是, St-G, Hsp-G, Rut-G 表面活性排序为 Rut-G < Hsp-G < St-G, 而 3 种 SDPs 中 IPR 溶解度排序为 Rut-G > Hsp-G > St-G, 与表面活性测定结果相反, 推测原因可能是 IPR 母核结构与芦丁及橙皮苷相似, 两者之间的相互作用力大于 St-G 与 IPR 之间的作用力。将 Rut-G 作为药物载体的另一优势是 SDPs 中 IPR 的溶出度与生物利用度均得到显著提高, C_{\max} 和 AUC 分别为 $17.7 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $133 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, 不仅能达到 PVP, 环糊精等大分子材料相似的效果, Rut-G 的抗吸湿性还优于 PVP, 从而更有利于制剂的质量控制。Fujimori 等^[6]采用喷雾干燥法分别制备 St-G, Hsp-G, Rut-G 与槲皮素 (quercetin, QUE) 的 SDPs, 结果表明 QUE 以无定形态分散在各载体中。QUE 的表观溶解度与 St-G, Hsp-G, Rut-G 的浓度呈线性增加, 当 QUE 与各载体的质量比为 1:10 时, 所得 SDPs 的表观溶解度与对照组相比分别增加了 39.3, 48.2, 234 倍, 其中 Rut-G 对 QUE 增溶作用最佳。当 QUE 与 Rut-G 的质量比为 1:20 时, 在水中 120 min 的累积溶出量与对照组相比增加了 75 倍, 且 QUE/Rut-G-SDPs 的抗氧化活性显著增强。

综上, St-G, Hsp-G 和 Rut-G 的载药范围较广, 主要为小分子药物, 载药方式简单。Hsp-G, Rut-G 在高浓度下只能形成聚集数为 4~5 个分子的小胶束, 而 St-2G 的聚集数高达 12 个, 胶束的稳定性明显优于前两者^[11-13]。由此可推测载体母核结构、糖基的数目和连接位置可能会影响胶束的载药性能。

5 结语与展望

糖基化改性食品添加剂是一种新型的药物载体, 在医药领域有很大的应用空间。其原料来源广泛、价格便宜、生物合成方法简单。糖基化改性食品添加剂具有独特的结构及优良的特性, 在水中能够自组装形成不同聚集数的壳-核结构, 从而增加药物的溶解度和生物利用度。相较于其他类型药物载体, 糖基化食品添加剂不仅具有较好的载药能力, 且负载药物的方式简单, 是良好的纳米载体; 糖基化改性食品添加剂还具有优良的生物安全性; 此外, 其还可以作为不升高血糖的矫味剂。然而, 糖基化改性食品添加剂作为药物载体的应用研究仍存在一定的局限性和亟待探索的问题, 如已合成的糖基化改性食品添加剂种类偏少, 同时糖基位置、数量与其在水中的自组装结构和增溶能力的关系还不是非常清楚; 目前糖基化改性食品添加剂可负载的药物大多为小分子药物, 而对于大分子药物的研究甚少; 糖基化改性食品添加剂作为药物载体最重要的仍是安全性, 其进入体内引发的一系列生理生化反应及其作用机制还有待深入研究; 糖基化改性食品添加剂是否能与特异性的配体或内源性物质共同构建药物载体, 实现药物的靶向性递送和可控释放将是日后研究的关注点; 随着科学研究的广泛深入, 相信这些问题会被逐一解决。

[参考文献]

- [1] Kadota K, Okamoto D, Sato H, et al. Hybridization of polyvinylpyrrolidone to a binary composite of curcumin/ α -glucosyl stevia improves both oral absorption and photochemical stability of curcumin [J]. Food Chem, 2016, 213:668-674.
- [2] Fujimori M, Kadota K, Tozuka Y. Mixed micelle system produced by interaction between transglycosylated stevia and an ionic surfactant improves dissolution profile of mefenamic acid [J]. J Pharm Sci, 2017, 106(4): 1117-1123.
- [3] Kadota K, Otsu S, Fujimori M, et al. Soluble hydrolysis-resistant composite formulation of curcumin containing α -glucosyl hesperidin and polyvinylpyrrolidone [J]. Adv Powder Technol, 2016, 27(2):442-447.
- [4] Sato H, Fujimori M, Suzuki H, et al. Absorption improvement of tranilast by forming highly soluble nano-size composite structures associated with α -glucosyl rutin via spray drying [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2015, 92: 49-55.
- [5] Fujimori M, Kadota K, Kato K, et al. Low hygroscopic spray-dried powders with trans-glycosylated food

- additives enhance the solubility and oral bioavailability of ipriflavone[J]. *Food Chem*, 2016, 190:1050-1055.
- [6] Fujimori M, Kadota K, Shimono K, et al. Enhanced solubility of quercetin by forming composite particles with transglycosylated materials[J]. *J Food Eng*, 2015, 149:248-254.
- [7] 万会达,蔡亚,校秋燕,等. 甜菊糖的酶法改性及其生物活性研究进展[J]. *中国食品添加剂*, 2011(5): 188-196.
- [8] Kadota K, Semba K, Shakudo R, et al. Inhibition of photodegradation of highly dispersed folic acid nanoparticles by the antioxidant effect of transglycosylated rutin[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(15):3062-3069.
- [9] Yoshino F, Yoshida A, Toyama T, et al. α -Glucosyl hesperidin suppressed the exacerbation of 5-fluorouracil-induced oral mucositis in the hamster cheek pouch[J]. *J Funct Foods*, 2016, 21:223-231.
- [10] YU H, Haskins J S, SU C, et al. *In vitro* screening of radioprotective properties in the novel glucosylated flavonoids[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(5):1525-1530.
- [11] ZHANG J, Higashi K, Ueda K, et al. Drug solubilization mechanism of α -glucosyl stevia by NMR spectroscopy [J]. *Int J Pharm*, 2014, 465(1/2):255-261.
- [12] ZHANG J, Tozuka Y, Uchiyama H, et al. NMR investigation of a novel excipient, α -glucosylhesperidin, as a suitable solubilizing agent for poorly water-soluble drugs[J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(10):4421-4431.
- [13] Tozuka Y, Higashi K, Morita T, et al. Transglycosylated rutin-specific non-surface-active nanostructure affects absorption enhancement of flurbiprofen[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, 82(1):120-126.
- [14] Uchiyama H, Tozuka Y, Asamoto F, et al. Fluorescence investigation of a specific structure formed by aggregation of transglycosylated stevias: solubilizing effect of poorly water-soluble drugs[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 43(1/2):71-77.
- [15] Tozuka Y, Kishi J, Takeuchi H. Anomalous dissolution property enhancement of naringenin from spray-dried particles with α -glucosylhesperidin [J]. *Adv Powder Technol*, 2010, 21(3):305-309.
- [16] Nazemnezhad R, Zare M, Hosseini-Hashemi S. Sandwich plate model of multilayer graphene sheets for considering interlayer shear effect in vibration analysis via molecular dynamics simulations[J]. *Appl Math Model*, 2017, 47: 459-472.
- [17] 宋欣. 微生物酶转化技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004:182-197.
- [18] Aoki C, Takeuchi Y, Higashi K, et al. Structural elucidation of a novel transglycosylated compound α -glucosyl rhoifolin and of α -glucosyl rutin by NMR spectroscopy[J]. *Carbohydr Res*, 2017, 443-444:37-41.
- [19] Uchiyama H, Tozuka Y, Imono M, et al. Transglycosylated stevia and hesperidin as pharmaceutical excipients: dramatic improvement in drug dissolution and bioavailability [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(2):238-244.
- [20] Markosyan A. Method of preparing alpha-glucosyl Stevia composition; US, US8257948B1 [P]. 2012.
- [21] Hijiya H, Miyake T. α -Glycosyl hesperidin and its uses; US, US5627157 [P]. 1997.
- [22] 康维民,贾文沧,吕国红. 酶处理橙皮苷的性质与应用[J]. *中国食品添加剂*, 2000(3):19-22.
- [23] Tanaka Y, Imatomi H, Takihara T, et al. Effects of glucosyl hesperidin on serum triglyceride and its safety in beverage[J]. *Yakuri to Chiryō*, 2010, 38:553-568.
- [24] LI J, LI N, ZHAO Y R, et al. Biosynthesis of a new psoralidin glucoside by enzymatic glycosylation [J]. *J South Med Univ*, 2016, 36(8):1029-1033.
- [25] 杨静文,孔繁思,栾霞,等. 嗜热糖苷酶与酶催化糖化合物合成研究进展[J]. *广西科学*, 2017, 24(1): 54-60.
- [26] Albesa-Jové D, Guerin M E. The conformational plasticity of glycosyltransferases [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2016, 40:23-32.
- [27] 孙婉,李海凤,陈静,等. 基于微生物来源糖类天然产物生物合成的糖基异构化[J]. *药学报*, 2013, 48(2):179-186.
- [28] 校秋燕,夏咏梅. 固定化环糊精葡萄糖基转移酶的催化转苷[J]. *中国食品添加剂*, 2013(1):116-120.
- [29] 孙涛. *Bacillus* sp. SK13.002 产环糊精葡萄糖基转移酶及基催化芦丁糖基化反应的研究[D]. 无锡:江南大学, 2011.
- [30] Mohammed A M A. 利用葡萄糖基蔗糖酶修饰甜菊糖苷研究[D]. 无锡:江南大学, 2015.
- [31] 丁力,夏咏梅. β -半乳糖苷酶催化制备甜菊双糖苷[J]. *中国食品添加剂*, 2013(2):144-148.
- [32] 赵露,孙颖. 甜菊糖酶法改性的工艺研究[J]. *粮食与食品工业*, 2013, 20(4):67-70.
- [33] Jaitak V, Kaul V K, Kumar N, et al. Simple and efficient enzymatic transglycosylation of stevioside by β -cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus firmus*[J]. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(9):1415-1420.
- [34] Danieli B, Luisetti M, Schubert-Zsilavec M, et al. Regioselective enzyme-mediated glycosylation of natural polyhydroxy compounds. Part 1. Galactosylation of

- stevioside and steviolbioside [J]. *Cheminform*, 1997, 28 (37): 1153-1160.
- [35] XU Z W, LI Y Q, WANG Y H, et al. Production of β -fructofuranosidase by *Arthrobacter* sp. and its application in the modification of stevioside and rebaudioside A [J]. *Food Technol Biotech*, 2009, 47 (2): 137-143.
- [36] Gerwig G J, Te Poele E M, Dijkhuizen L, et al. Structural analysis of rebaudioside A derivatives obtained by *Lactobacillus reuteri* 180 glucansucrase-catalyzed trans- α -glucosylation [J]. *Carbohydr Res*, 2017, 440-441: 51-62.
- [37] 宋婷婷, 尹慧慧, 杨帆, 等. 一株产 CGTase 环糊精葡萄糖基转移酶的细菌改性甜菊苷的研究 [J]. *南京师范大学学报: 自然科学版*, 2017, 40 (1): 95-98.
- [38] Abelyan V H, Ghochikyan V T, Markosyan A A, et al. Extraction, separation and modification of sweet glycosides from the *Stevia rebaudiana* plant: US, US7838044 [P]. 2006.
- [39] Kochikian V T, Markosian A A, Abelian L A, et al. Combined enzymatic modification of stevioside and rebaudioside A [J]. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 2006, 42 (1): 37-43.
- [40] Abelian V A, Balaian A M, Kochikian V T, et al. Transglycosylation of stevioside by cyclodextrin glucanotransferases of various group of microorganisms [J]. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 2004, 40 (2): 153-158.
- [41] 万会达, 夏咏梅. 脱苦甜菊糖的酶法制备 [J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38 (8): 42-46.
- [42] 盛雪飞, 沈妍, 吴丹, 等. 橙皮苷改性技术研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34 (9): 109-112.
- [43] Miyake T, Yumoto T. Enzyme-treated hesperidin, process for producing the same and method of using enzyme-treated hesperidin: US, US5885969 [P]. 1999.
- [44] 盛占武, 金志强, 高锦合, 等. 响应面法优化橙皮苷酶法改性工艺研究 [J]. *中国食品学报*, 2010, 10 (4): 202-210.
- [45] Kometani T, Nishimura T, Nakae T, et al. A method for preparation of soluble carthamin, red pigment from safflower, using glycosyl hesperidin [J]. *Food Sci Technol Res*, 2006, 5 (3): 265-270.
- [46] Suzuki Y, Suzuki K. Enzymatic formation of 4- α -glucopyranosyl-rutin [J]. *Agric Biol Chem*, 1991 (1): 181-187.
- [47] Vecchi B L, Marcuzzi A, Tricarico P M, et al. Curcumin and inflammatory bowel disease: potential and limits of innovative treatments [J]. *Molecules*, 2014, 19 (12): 21127-21153.
- [48] 赵传怡, 张庆乐, 许福生, 等. 蜂胶黄酮-铝铅复合氧化物的制备和缓释性能研究 [J]. *中国蜂业*, 2017, 68 (1): 47-50.
- [49] Tozuka Y, Imono M, Uchiyama H, et al. Dry powder formulation with α -glycosyltransferase-treated stevia for the effective absorption of hydrophobic bioactive compounds in crude drugs [J]. *Powder Technol*, 2013, 240: 2-6.
- [50] Uchiyama H, Tozuka Y, Imono M, et al. Improvement of dissolution and absorption properties of poorly water-soluble drug by preparing spray-dried powders with alpha-glucosyl hesperidin [J]. *Int J Pharm*, 2010, 392 (1/2): 101-106.
- [51] Tozuka Y, Imono M, Uchiyama H, et al. A novel application of α -glucosyl hesperidin for nanoparticle formation of active pharmaceutical ingredients by dry grinding [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 79 (3): 559-565.
- [52] Uchiyama H, Tozuka Y, Asamoto F, et al. α -Glucosyl hesperidin induced an improvement in the bioavailability of pranlukast hemihydrate using high-pressure homogenization [J]. *Int J Pharm*, 2011, 410 (1/2): 114-117.
- [53] Mandal A K, Mercado A, Foster A, et al. Uricosuric targets of tranilast [J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2017, 5 (2): e00291.

[责任编辑 刘德文]