

· 综述 ·

# 鬼臼毒素及其衍生物新型制剂抗肿瘤作用研究进展

黄雄<sup>1</sup>, 林敏超<sup>1</sup>, 余柏村<sup>1</sup>, 朱琦峰<sup>1</sup>, 蒋小红<sup>1</sup>, 金成胜<sup>2</sup>, 黄嬛<sup>1\*</sup>

(1. 嘉兴学院医学院, 浙江 嘉兴 314001; 2. 嘉兴学院附属第二医院, 浙江 嘉兴 314000)

**[摘要]** 随着新辅料、新技术、新载体的不断涌现, 鬼臼毒素及其衍生物的新剂型的研究呈现出广阔的前景。概述了鬼臼毒素在脂质体纳米粒、层状双氢氧化物、聚合物胶束等新型载药系统中对多种肿瘤细胞的抗肿瘤作用; 同时介绍了鬼臼毒素衍生物依托泊苷微球、口服微乳、纳米脂质体、 $\beta$ -环糊精包合物等新剂型在抗肿瘤研究中的靶向治疗、增加疏水性药物的溶解度、缓释作用方面的应用。随着鬼臼毒素及其衍生物的新型靶向制剂的进一步研究, 可在降低毒副作用的同时增强其抗肿瘤作用, 为合理开发鬼臼毒素及其衍生物的新剂型提供了研究基础。

**[关键词]** 鬼臼毒素; 依托泊苷; 新剂型; 抗肿瘤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0296-04

## Progress in New Preparations of Podophyllotoxin and its Derivatives for Anti-tumor Effect

HUANG Xiong<sup>1</sup>, LIN Min-chao<sup>1</sup>, YU Bai-chun<sup>1</sup>, ZHU Qi-feng<sup>1</sup>,  
JIANG Xiao-hong<sup>1</sup>, JIN Chen-sheng<sup>2</sup>, HUANG Huan<sup>1\*</sup>

(1. Medical College of Jiaxing University, Jiaxing 314001, China;

2. The Second Affiliated Hospital of Jiaxing University, Jiaxing 314000, China)

**[Abstract]** With the new materials, new technologies and new emerging carriers, the research of novel dosage form of podophyllotoxin and its derivatives is opening up a broader prospect. Relevant literatures are collected, compiled for review. The applications of podophyllotoxin in liposome nanoparticles, layered double hydroxide, drug-loaded polymer micelles, and other new drug carrier system and its anti-tumor effect were introduced. The podophyllotoxin derivatives etoposide microspheres, oral microemulsion, nano-liposomes,  $\beta$ -cyclodextrin and other new formulations for anti-cancer in targeted therapy, increasing the solubility of hydrophobic drugs, sustained-release effect of the drug were also introduced. Further studies on podophyllotoxin and its derivatives as novel targeted agents will reduce toxicity and enhance the characteristics of anti-tumor effect. All these could serve as referential basis for the reasonable development of podophyllotoxin and its derivatives with new formulations.

**[Key words]** podophyllotoxin; etoposide; new preparations; anti-tumor

鬼臼毒素类化合物具有显著的抗肿瘤活性, 由鬼臼毒素结构改造所得的衍生物依托泊苷 (etoposide, VP-16) 和替尼

泊苷 (teniposide, VM-26) 目前已成为应用于临床的抗癌代表药物。但由于鬼臼毒素及其衍生物因毒性强、副作用大而使其应用受到限制。随着医学领域和药物制剂技术的不断发展, 脂质体纳米粒、层状双氢氧化物、聚合物胶束等作为新型药物载体, 以其良好的组织相容性和靶向缓释特性, 成为目前肿瘤靶向治疗的研究热点, 本文主要概述了鬼臼毒素及其衍生物依托泊苷的新剂型及其在抗肿瘤研究方面的作用。

### 1 鬼臼毒素及其衍生物概述

鬼臼毒素类化合物具有显著的抗肿瘤活性, 目前临床上应用较为广泛的是半合成鬼臼毒素衍生物依托泊苷 (VP16)

**[收稿日期]** 20110928(715)

**[基金项目]** 浙江省自然科学基金(Y2081030); 嘉兴市科技计划项目(2009AY2066)

**[第一作者]** 黄雄, 讲师, 从事药物质量控制及药效学研究, Tel:0573-83643865, E-mail:541974127@qq.com

**[通讯作者]** \* 黄嬛, 教授, 从事药物剂型的研制, Tel:0573-83643899, E-mail:440383432@qq.com

和替尼泊昔(VM26)<sup>[1]</sup>。它们对于小细胞肺癌、睾丸癌、急性白血病以及恶性淋巴瘤等多种癌症都具有良好的疗效<sup>[2]</sup>。依托泊苷单用虽也有效,但临床上常与顺铂联合用于治疗肺癌及睾丸肿瘤,疗效较好,也用于淋巴瘤治疗,替尼泊昔对脑胶质瘤、肺癌脑转移瘤有较好效果。鬼臼毒素、VP16和VM26经结构修饰后得到的衍生物GP-11, NK-611, TOP-53, NPF, GL-331, CN2等对不同的肿瘤细胞表现出了明显的增殖抑制作用和凋亡诱导作用,其中有些已作为肿瘤新药已进入I, II期临床研究<sup>[3-5]</sup>。

## 2 鬼臼毒素新制剂的抗肿瘤作用

### 2.1 鬼臼毒素脂质体

脂质体作为一种新型药物载体制剂,以其良好的组织相容性和靶向缓释特性,成为目前肿瘤靶向治疗的研究热点,鬼臼毒素脂质体的抗肿瘤作用,得到了进一步研究。纳米脂质载药系统是以天然的或人工合成的高熔点固体脂质(如饱和脂肪酸甘油酯、硬脂酸、混合脂质)为载体<sup>[6]</sup>,载药纳米脂质体在一些肿瘤动物模型的靶向治疗技术中已表现出独特的优势。程冀等<sup>[7]</sup>优选出鬼臼毒素新型脂质体的制备工艺为氢化磷脂:胆固醇20:3.26, 氢化磷脂:PAMAMdendrimerG3.5 脂质小球20:0.5, 氢化磷脂:鬼臼毒素20:1.5, 旋转蒸发温度为45℃,通过上述制备工艺得到的新型脂质体具有粒径更小,包封率更高,稳定性更好的特点。

鬼臼毒素脂质体剂型的抗肿瘤活性研究中,薛猛等<sup>[8]</sup>以昆明小鼠S180肉瘤模型,评价鬼臼毒素(PPT)被固体脂质纳米粒(SLN)包裹前、后的抗肿瘤效果,分别以 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (等效剂量)对小鼠每天腹腔注射,鬼臼毒素固体脂质纳米粒抑瘤率达58.13%,抑瘤效果显著,PPT在血药中的浓度得到了提升。史毓杰等<sup>[9]</sup>研究鬼臼毒素脂质体影响Hela细胞的增殖作用时也发现,鬼臼毒素脂质体具有强的增殖抑制和诱导凋亡作用,作用72h后,鬼臼毒素及其脂质体半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 $4.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.65\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,作用24, 72h的诱导凋亡率分别为64.1%、68.4%和90.8%和94.2%。

纳米脂质载体是近年来继固体脂质纳米粒发展起来的第2代亚微粒载药系统,具有较高的载药量和物理稳定性。江中洪等<sup>[10]</sup>选择固体脂质硬脂酸、单硬脂酸甘油酯和液态脂质油酸,采用改良的乳化蒸发-低温固化法制备鬼臼毒素纳米脂质微粒(PPT-NLC),稳定性好于固体脂质纳米粒,包封率较高。在应用光子相关谱法研究用0.5%泊洛沙姆188和1.5%的大豆卵磷脂固化的鬼臼毒素脂质体纳米粒(P-SLN)和2%聚山梨酯-80制备的纳米粒(T-SLN)中,体外透皮实验表明与0.15%的酞剂相比,P-SLN在猪皮上鬼臼毒素的释放量是酞剂的3.48倍,但T-SLN并未显示出较高的释放量,说明药物通过皮肤角质层和毛囊二种途径进行渗透<sup>[11]</sup>。

### 2.2 鬼臼毒素层状双氢氧化物

层状双氢氧化物作为无机纳米药物载体因其良好的安全性、稳定性、生物相容性和生物可降解性已成为一类重要的药物载体<sup>[12]</sup>。层状双氢氧化物

(LDH)作为纳米药物载体制备鬼臼毒素的复合载药体系,鬼臼毒素层状双氢氧化物(PPT-LDH)有长期抑制肿瘤生长和提高肿瘤细胞凋亡过程。体外Hela细胞毒性显示复合载药体系具有更好的抗肿瘤效果,体内研究表明PPT-LDH与PPT相比较,能延长循环时间和增加生物利用度<sup>[13]</sup>。

### 2.3 鬼臼毒素聚合物胶束

聚合物胶束系指一类由两亲性嵌段共聚物组成的胶束,该两亲性共聚物由疏水片段和亲水片段组成,在水溶液中能够形成具有球形的内核-外壳结构的共聚物胶束,由于这种独特的化学结构,将药物增溶在内部,降低其毒副作用,外壳对药物起保护作用,提高药物的稳定性,并且达到缓释作用,同时通过胶束的表面修饰可以达到靶向作用。目前对鬼臼毒素在这方面的相关研究报道较少,主要是N-异丙基丙烯酰胺(NIPAAm)-壳聚糖聚合物,聚乙二醇(PEG)修饰的两亲性共聚物等。

对pH敏感的靶向传递系统的研制中,制备了鬼臼毒素NIPAAm-壳聚糖聚合物纳米粒,人肺癌A549和人纤维原细胞检测生物活性,发现NIPAAm和壳聚糖(CS)之比为4:1,药物纳米粒的平均粒径在50~150nm,对肿瘤显示良好的pH敏感性<sup>[14]</sup>。PEG修饰的两亲性共聚物高分子材料更多的受到人们的关注,用于抗癌药物的载体。以PEG修饰的两亲性嵌段共聚物聚乙二醇-聚己内酯(MePEG-PCL)作为载体,用薄膜分散法制备了聚合物胶束新剂型<sup>[15]</sup>。鬼臼毒素-聚乙二醇-聚己内酯嵌段共聚物(PPT-MePEG-PCL)在水溶液中可以形成具有核壳结构的胶束,其临界缔合浓度较低,对疏水药物具有良好的装载和缓释能力。朱雄等<sup>[16]</sup>用正交试验优选磺丁基醚-β-环糊精对去氧鬼臼毒素的包合效果,差示扫描量热法和X射线衍射法确证包合物的形成。包合后使去氧鬼臼毒素在水中的溶解度从约 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高至约 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,体外、体内活性试验证实,去氧鬼臼毒素对多种肿瘤细胞具有显著的抗肿瘤活性。

## 3 依托泊昔(VP16)新制剂的抗肿瘤作用研究

鬼臼毒素衍生物在临床上应用较为广泛的是VP16和VM26,近年来对VM26新剂型的研究较少,主要集中在VP16新剂型的抗肿瘤研究,如在微球、口服微乳、纳米脂质体、乳酸-羟乙酸共聚物、N-辛基-O-硫酸酯基壳聚糖(NOSC)、β-环糊精(β-CD)包合物等方面的应用。

微球作为抗肿瘤药物靶向制剂研究已有报道,通过控制微球粒径大小,可以使药物浓集靶区,达到提高疗效,降低不良反应的目的。药物尤其是难溶性药物的粒径控制将直接影响微球粒径及其靶向性。于莲等<sup>[17]</sup>采用以难溶性抗肿瘤药物依托泊昔为肺靶向模型药物,采用来源丰富、具有较强的亲水性的壳聚糖为载体材料,采用乳化交联法制备VP16壳聚糖-海藻酸钠微球(Etoposide Chitosan-alginate Microsphere, ECAM)的体内抑瘤作用及体内分布,发现ECAM具有明显的抑制移植性Lewis肺癌的作用和肺靶向效果。

微乳作为口服药物载体,可以增加疏水性药物的溶解

度,提高生物利用度,经淋巴吸收,避免了首过效应,减少药物在体内的酶解,促进大分子药物在胃肠道的吸收等。为提高 VP16 的溶解度,促进其在体内的吸收,解决口服给药存在个体差异较大的问题,王杏林等<sup>[19]</sup>制备了 VP16 的 O/W 型口服微乳,所制备的 O/W 型微乳能显著提高 VP16 的溶解度,且制备简单,质量稳定。

通过对研究 VP16-三棕榈酸甘油酯脂质纳米粒,VP16-单硬脂酸甘油酯纳米粒,VP16-甘油二硬脂酸酯纳米粒的对比研究后,小鼠在上述三种制剂的治疗后 8 d,能够释放亚二倍体峰,并降低 s 期。发现 VP16-三棕榈酸甘油酯脂质纳米粒表现出在延长诱导细胞凋亡,增加荷瘤小鼠的生存时间上有更大的性能<sup>[20]</sup>。李鑫等<sup>[21]</sup>评价了隐形 VP163 脂质体在家兔体内的药动学,隐形 VP16 脂质体、VP16 注射液和普通 VP16 脂质体的消除半衰期分别为 (19.26 ± 3.16), (0.94 ± 0.21), (7.99 ± 1.36) h,表明隐形 VP16 脂质体显著延长了 VP16 在血液中的循环时间,具有缓释作用。

VP16 是在急性淋巴细胞白血病和急性髓性白血病治疗中最常用药物之一,可生物降解的持续缓慢释放型聚乳酸-羟基乙酸共聚物被认为是一种较好的药物纳米载体。通过处方设计优化 VP16-聚乳酸-羟基乙酸共聚物,纳米粒的制备利用高压搅拌乳化溶剂挥发法。因素设计的方法优化药物和多聚体的比例,表面活性剂的浓度等条件,可使药物的持续释放能达到 72 h<sup>[22]</sup>。与 VP16 单体药物相比,一种 Tc-99m 标记的 VP16 聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA) 纳米粒,VP16 的聚己内酯 (PCL) 纳米粒在小鼠体内分解及药代动力学研究表明,聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒,聚己内酯纳米粒作为药物的载体能提高药物 VP16 的生物利用度,并降低副作用<sup>[23]</sup>。

P-糖蛋白是一类能量依赖性的转运蛋白,能将许多结构不同的化合物逆向转运出细胞,P-糖蛋白的过表达与肿瘤细胞的多药耐药性密切相关。P-糖蛋白在肠上皮细胞顶膜的过多表达,可以减少药物口服生物利用度。许多表面活性剂/辅料,NOSC,已被证明有潜在通过抑制 p-糖蛋白而增加口服药物吸收的能力,不同浓度的 NOSC 将增加大鼠肠道上皮对 VP16 的吸收,尤其是空肠和回肠<sup>[24]</sup>。

张跃华等<sup>[25]</sup>采用荧光光谱法研究了  $\beta$ -CD 与 VP16 之间的超分子包结作用,考察了时间、温度和浓度对包结反应的影响。VP16 本身具有天然荧光,与  $\beta$ -CD 形成 1:1 的超分子包结物后,荧光强度增大, $\beta$ -CD 对 VP16 有荧光增敏作用。

#### 4 结语

鬼臼毒素及其衍生物 VP16 因具有显著的抗癌活性而备受关注,鬼臼毒素及其衍生物新型制剂如壳聚糖微球、纳米脂质载体、壳聚糖聚合物胶束体系、聚乙二醇-聚己内酯嵌段共聚物等采用新型的给药方式,在抗肿瘤作用中显示出了良好的特性,尤其在增加疏水性药物的溶解度的同时达到了靶向治疗、缓释作用的目的。通过文献研究可以看到如何研究制备聚合物胶束新剂型、复合载药体系及对载药胶束的表面进行修饰等关键技术将是今后肿瘤药物靶向治疗的研究

热点。在当前相当一段时期内,传统细胞毒性药物仍将是肿瘤药物治疗的研究对象,因此如何把新剂型的优点和鬼臼毒素类药物的抗肿瘤特点有机结合是今后研究工作的主要课题。

#### [参考文献]

- [1] Brene S, Bjonebekk A, Aberg E, et al. Running is rewarding and antidepressive [J]. *Physiol Behav*, 2007, 92(1/2): 136.
- [2] 吕晶晶, 张予阳, 陈虹, 等. 鬼臼毒素衍生物 CIP-36 诱导 KBV200 细胞凋亡[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(5): 607.
- [3] Kanarek R B, D Anci K E, Jurdak N, et al. Running and addiction: precipitated withdrawal in a rat model of activity-based anorexia [J]. *Behav Neurosci*, 2009, 123(4):905.
- [4] 杨再鑫, 陈虹, 曹波, 等. 新鬼臼毒素衍生物 ZM-16 诱导 K562/A02 细胞凋亡及其机制[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(7): 979.
- [5] 张慧芳, 张煦, 范临兰. 鬼臼毒素衍生物诱导人肺腺癌 A549 细胞凋亡[J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27(16):1516.
- [6] Gordaliza M, Castro M A, Miguel del Corral J M, et al. Antitumor properties of Podophyllotoxin and related compounds [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2000, 6: 1811.
- [7] 程冀, 季宇彬, 王向涛. 正交试验法优选鬼臼毒素新型脂质体的制备工艺[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2009, 26(6):795.
- [8] 薛猛, 朱融融, 秦黎黎, 等. 鬼臼毒素固体脂质纳米粒的抗肿瘤活性及药代动力学研究[J]. *中国科学 B 辑:化学*, 2009, 39(2):159.
- [9] 史毓杰, 曾抗, 李国锋, 等. 鬼臼毒素纳米脂质体对宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(5):786.
- [10] 江中洪, 曾抗, 李国锋, 等. 鬼臼毒素纳米脂质载体的制备及质量考察[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(6):1039.
- [11] Chen H, Chang X, Du D, et al. Podophyllotoxin-loaded solid lipid nanoparticles for epidermal targeting [J]. *Control Release*, 2006, 110(2):296.
- [12] Kwak S Y, Jeong Y J, Park J S, et al. Bio-LDH nanohybrid for gene therapy [J]. *Solid State Ionics*, 2002, 151:229.
- [13] Qin L, Xue M, Wang W, et al. The *in vitro* and *in vivo* anti-tumor effect of layered double hydroxides nanoparticles as delivery for podophyllotoxin [J]. *Int J Pharm*, 2010, 388(1/2):223.

# 雷公藤的药性文献回顾及其作用机制研究进展

李德平<sup>1</sup>, 翟华强<sup>1\*</sup>, 曹炜<sup>2</sup>, 郭小文<sup>\*</sup>, 程梦琳<sup>3</sup>

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;  
3. 湖北科技学院, 湖北 咸宁 437100)

**[摘要]** 以“雷公藤”为主题词,“药性”、“药性研究”、“机制研究”、“实验研究”等为自由词,在中文数据库如中国期刊全文数据库、维普数据库中检索,以“Tripterygium”,“Tripterygium wilfordii”,“thunder god vine”,“Leigongteng”为主题词,“traditional Chinese medicine’s property”,“property”,“mechanism study”,“experimental study”等为自由词在外文数据库如 Medline, EMBASE 中检索,并跟踪检索相关文献的参考文献,同时参考相关书籍。除去一些重复性研究文献,收集符合相关文献 38 篇。根据这些文献及相关书籍,首先回顾有关雷公藤药性方面的文献,在此基础上,总结其功效和临床应用,然后对其作用机制的研究进展进行分析。虽然雷公藤及其相关制剂已广泛地应用于治疗各种疾病,但其药性存在争议,作用机制不甚明确,临床应用有欠合理,应该在中药药性理论的指导下,对其作用机制展开研究,以使雷公藤更有效、更合理地应用于临床。

**[关键词]** 雷公藤; 药性; 作用机制; 实验研究

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0299-05

**[收稿日期]** 20111230(012)

**[基金项目]** 北京市自然科学基金项目(7102097);北京中医药大学创新团队项目

**[第一作者]** 李德平, 硕士, 从事中药药性理论、风湿免疫病学研究, E-mail: ldp8855@163.com

**[通讯作者]** \* 翟华强, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 从事中药药性理论研究, Tel: 010-84738630, E-mail: zhaihq999@yahoo.com.cn

- [14] Li Fan, Hong Wu, Hui Zhang, et al. pH-sensitive Podophyllotoxin carrier for cancer cells specific delivery [J]. *Polymer Composites*, 2010, 31 (1):51.
- [15] 高鹏. 鬼臼毒素的聚乙二醇聚己内酯胶束的制备 [J]. *江西中医药*, 2010, 41(2):326.
- [16] 朱雄, 吴葆金, 罗厚蔚, 等. 去氧鬼臼毒素-磺丁基醚- $\beta$ -环糊精包合物的制备及抗肿瘤作用 [J]. *中国药科大学学报*, 2010, 41(5):447.
- [17] 于莲, 李爱臣, 张传美, 等. 依托泊苷肺靶向壳聚糖微球的研制 [J]. *黑龙江医药科学*, 2009, 32(6):47.
- [18] 杨建玲, 刘彦雪, 胡志成. 依托泊苷壳聚糖-海藻酸钠微球的体内抗癌活性及在小鼠体内分布 [J]. *中国现代医学*, 2010, 48(24):10.
- [19] 王杏林, 尹东东, 张俊伟. 依托泊苷口服微乳的制备及质量评价 [J]. *华西药理学杂志*, 2009, 24(2):139.
- [20] Reddy L H, Adhikari J S, Dwarakanath B S, et al. Tumoricidal effects of etoposide incorporated into solid lipid nanoparticles after intraperitoneal administration in Dalton’s lymphoma bearing mice [J]. *AAPS J*, 2006, 8 (2):E254.
- [21] 李鑫, 郭建民, 张彦卓, 等. 隐形依托泊苷脂质体在家兔体内的药动学 [J]. *世界临床药物*, 2008, 29 (11):688.
- [22] Yadav K S, Sawant K K. Formulation optimization of etoposide loaded PLGA nanoparticles by double factorial design and their evaluation [J]. *Curr Drug Deliv*, 2010, 7(1):51.
- [23] Snehalatha M, Venugopal K, Saha R N, et al. Etoposide loaded PLGA and PCL nanoparticles II: biodistribution and pharmacokinetics after radiolabeling with Tc-99 m [J]. *Drug Deliv*, 2008, 15(5):277.
- [24] Mo R, Xiao Y, Sun M, et al. Enhancing effect of *N*-octyl-*O*-sulfate chitosan on etoposide absorption [J]. *Int J Pharm*, 2011, 409(1/2):38.
- [25] 张跃华, 王南平, 张其平, 等.  $\beta$ -环糊精与依托泊苷相互作用的荧光光谱研究 [J]. *药理学学报*, 2009, 44 (12):1416.

[责任编辑 何伟]