

· 综述 ·

## 冬凌草甲素纳米制剂的研究和应用

陈美婉, 陈锐娥, 李颖博, 谭雯, 王一涛\*

(中药质量研究国家重点实验室 澳门大学中华医药研究院, 澳门 999078)

**[摘要]** 冬凌草甲素(oridonin), 别名冬凌草素、延命草宁, 是唇形科香茶菜属植物碎米亚桤 *Rabdosia rubescens* 的全草, 由醇提、萃取、层析、结晶等工序完成。冬凌草甲素对白血病、乳腺癌、黑色素瘤等多种肿瘤, 具有显著的抑制或杀伤作用, 主要用于抗肿瘤, 抗菌, 清热解毒, 消炎止痛和健胃活血等方面的治疗。但因其微溶于水, 且味道极苦, 很大程度上限制了其在临床上的应用。纳米制剂作为一种新型的药物传递系统, 近年来已有学者开展了冬凌草甲素纳米制剂的研究探索, 其中包括冬凌草甲素的 $\beta$ -环糊精包合物、纳米粒、脂质体、微乳聚合物胶束和纳米混悬剂等。研究发现, 纳米制剂能够有效地改善冬凌草素水溶性, 提高其生物利用度, 具有开发价值和广阔的应用前景。该文对当前冬凌草甲素纳米制剂的研究和应用状况进行了综述, 为冬凌草甲素新制剂的研究开发提供依据。

**[关键词]** 冬凌草甲素; 纳米药物传递系统; 研究应用

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0284-04

## Research and Application in Nanoparticle Formulation of Oridonin

CHEN Mei-wan, CHEN Rui-e, LI Ying-bo, TAN Wen, WANG Yi-tao\*

(Institute of Chinese Medical Sciences, State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, University of Macau, Macau 999078, China)

**[Abstract]** Oridonin, named isodonol and rubescensin A, can be achieved by alcohol extraction, extraction, chromatography and crystallization from the herba of *Rabdosia rubescens*. Oridonin is able to kill and inhibit different types of cancer cells, such as leukemia, breast cancer, melanoma and so on. Therefore, it's widely used as anti-humor, antibacterial, anti-inflammatory and antinociceptive agent nowadays. However, due to its poor water-soluble and extremely bitter taste, the clinical application of oridonin is limited. Nanoparticle formulation, a new kind of drug delivery system, could improve its water-soluble and bioavailability effectively. Nanoparticles, liposomes, microemulsion, polymer micelles and nanosuspensions of oridonin have been developed during these years. This paper mainly reviews the latest research and application in nanoparticle formulation of oridonin. It will provide foundation for further research and development of new formulation for oridonin.

**[Key words]** oridonin; nanoparticle drug delivery system; research and application

冬凌草甲素(oridonin), 别名冬凌草素, 延命草宁, 是从唇形科(Labtea)香茶菜属植物碎米亚桤 *Rabdosia rubescens* 中

提取出的一种贝壳杉烯二帖类(ent-kaurene diterpenoid)天然有机化合物。研究表明, 冬凌草甲素具有较强的抗肿瘤活性, 对白血病, 乳腺癌, 黑色素瘤等多种肿瘤有显著的抑制或杀伤作用<sup>[1]</sup>。冬凌草甲素的抗肿瘤活性与其结构中 与环外亚甲基共轭的环戊酮结构密切相关, 环外双键被饱和或裂环, 则抗癌活性消失<sup>[2]</sup>。目前, 国内外关于冬凌草甲素的抗癌活性机制研究主要有: 抑制细胞增殖, 周期阻滞, 下调端粒酶, 诱导凋亡及自噬等<sup>[3]</sup>。然而, 由于冬凌草甲素水溶性极差, 且味道极苦, 在很大程度上限制了其在临床上的广泛应

**[收稿日期]** 20110422(014)

**[基金项目]** 澳门科学技术发展基金项目(029/2007/A2); 澳门大学研究基金项目(UL016/09-Y1)

**[通讯作者]** \* 王一涛, 教授, 博士研究生导师, 从事中药药理学与中药质量评价研究, Tel: 00853-83974691, E-mail: ytwang@umac.mo

用,目前临床上使用较广的仅有“癌得宁注射液”。因此,如何改善冬凌草甲素的水溶性,使其能更加广泛地应用于临床,是当前学者正努力试图解决的难题,许多学者在对其剂型及相应的给药途径都进行了深入的研究,并且取得一定的效果。

## 1 冬凌草甲素纳米剂型研究

传统剂型如片剂、散剂、颗粒剂等都较难解决冬凌草甲素水溶性差的缺点,而纳米给药系统(nanoparticle drug delivery system, nDDS)在提高药物的水溶性和生物利用度,降低不良反应等方面显示出独特的优势,越来越受到国内外研究工作者的关注。因此,运用纳米给药系统来改善冬凌草甲素的临床运用已成为当前国内外研究的主要方向。目前研究开发的冬凌草甲素纳米制剂主要有 $\beta$ -环糊精包合物、纳米粒、脂质体、微乳、聚合物胶束、纳米混悬剂等。

**1.1  $\beta$ -环糊精包合物** 包合物是指一种分子被全部或部分包含于另一种分子的空穴结构内,形成的特殊的络合物。将药物制成包和物后,可有效增大其溶解度,调节其体内释放,提高稳定性和生物利用度,降低药物的刺激性和毒副作用,同时可将液体药物粉末化,也可防止易挥发成分的挥发,掩盖药物的不良气味或味道<sup>[4]</sup>。环糊精(cyclodextrin, CD)及其衍生物如 $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)是常用的包含材料,为中空圆筒形结构,圆筒形的开口呈亲水性,内部呈疏水性,此结构有助于将难溶性的有机药物包含其中,从而改善药物的水溶性。沉淀法是制备 $\beta$ -CD包合物一种常见方法,将冬凌草甲素的甲醇溶液和 $\beta$ -CD的饱和溶液混合后搅拌反应,然后冷藏放置两天,抽滤冲洗即得摩尔比为1:1的冬凌草甲素 $\beta$ -CD包合物<sup>[5]</sup>。有研究者<sup>[6]</sup>采用相溶解度法进行研究,结果发现在水溶液中,羟丙基- $\beta$ -环糊精(HPCD)对冬凌草甲素的相溶解度曲线呈良好的线性关系,冬凌草甲素的浓度随HPCD浓度的增加而呈线性增加,由此可见,将冬凌草甲素制成包合物可有效地提高其水溶性。

**1.2 纳米粒** 纳米粒(nanoparticles)是由高分子物质组成,粒径在10~100 nm,药物可以溶解,包裹于其中或吸附在表面上。纳米粒可以改变药物在体内的动力学特征,具有提高药物的疗效,降低毒副作用等优势,可在一定程度上弥补传统冬凌草甲素的不足,改善其临床运用。目前,人们通过对普通纳米粒进行修饰而得到新型纳米粒主要有:隐形纳米粒,配体偶联纳米粒,磁性纳米粒等,这些纳米粒比普通纳米粒具有更好的稳定性和靶向性,在运载抗肿瘤药和抗病毒药方面有着明显的优势,常用的制备冬凌草甲素纳米粒的方法有:聚合反应法,溶剂挥发法,盐析或乳化分散法,高压乳匀法,超临界流体技术法等<sup>[7-8]</sup>。有学者采用聚合反应法,以聚己内酯-聚氧乙烯-聚己内酯(PCL-PEO-PCL)为载体材料,辛酸亚锡为催化剂成功制备了冬凌草甲素的聚己内酯-聚氧乙烯-聚己内酯纳米粒(ORI-PCL-PEO-PCL-NPs),并对其在小鼠体内的抗肿瘤活性进行了研究,结果显示ORI-PCL-PEO-PCL-NPs可有效延长小鼠的存活时间,改善冬凌草甲素的

疗效<sup>[9]</sup>。

**1.2.1 固态类脂纳米粒** 固态类脂纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)是近年兴起的一种新型毫微粒给药系统,以固态的天然或合成的类脂,如卵磷脂、三酰甘油等为载体将药物包裹于类脂核中制成粒径约为50~1 000 nm的固体胶粒给药系统。有学者以硬脂酸为载体材料制备了冬凌草甲素的固态类脂纳米粒,包封率为45%左右,其体外释药实验显示,该纳米粒具有良好的缓释效果<sup>[10]</sup>。此外,在给小鼠注射相同剂量的冬凌草甲素固态类脂纳米粒(ORI-SLN)和冬凌草甲素普通注射液后,可以发现注射ORI-SLN的小鼠体内冬凌草甲素在单核巨噬细胞丰富的肝脏中的分布较普通注射液理想,并且在相同的时间点肝脏中药物浓度也明显高于普通剂型,说明ORI-SLN的肝脏靶向性比普通剂型强,具有更好的应用前景<sup>[11]</sup>。

**1.2.2 聚乳酸纳米粒** 聚乳酸纳米粒(poly lactic acid nanoparticles, PLA-NP),是以一定量的乳酸缩合反应得到的纳米粒。将药物制成PLA-NP后,可延长药物在体内的半衰期,并改变其在体内的转运与分布,提高生物利用度,降低毒副作用,因而PLA-NP是载药纳米粒的理想载体<sup>[12]</sup>。邢洁<sup>[13]</sup>等采用改良的自乳化溶剂蒸发法制备冬凌草甲素聚乳酸纳米粒(ORI-PLA-NP)冻干粉针剂,粉针剂中药物在纳米粒的量为整个制剂的98.42%,载药量8.17%,可以满足临床治疗需求。另一药代动力学研究发现:ORI-PLA-NP可以有效地延长药物的血液循环时间,而且静脉注射ORI-PLA-NP的结果显示ORI在肝、肺、脾等组织内的浓度较高,持续时间较长<sup>[14]</sup>。综上所述,将冬凌草甲素制成聚乳酸纳米粒可以有效地提高冬凌草甲素的疗效,是改善其临床运用的有效途径之一。

**1.3 脂质体** 脂质体(liposomes)由双分子层所组成的载药体,它与由表面活性剂构成的胶束不同,胶束是由单分子层所组成,脂质体的组成成分主要有磷脂及胆固醇等。脂质体可包在脂溶性药物或水溶性药物,具有以下特点:细胞亲和性、靶向性、缓释性、可降低药物毒性、提高药物稳定性等,因而近几年也受到极大的关注,目前脂质体已作为抗癌药物、抗菌药物、免疫激活剂、肝靶向制剂等的载体被广泛应用<sup>[15-16]</sup>。近年来人们还研制出了长循环脂质体、pH敏感脂质体、温度敏感脂质体、前体脂质体、磁性脂质体、免疫脂质体、膜融合脂质体、柔性脂质体等新型脂质体,以克服普通脂质体对某些疾病靶向性不理想及稳定性欠缺等缺点,使其能在临床上更加广泛地被应用<sup>[17]</sup>。

长循环脂质体(long-circulating liposomes),又称长效脂质体,是指脂质体经适当修饰后,可避免网状内皮系统吞噬,从而延长药物在体内循环系统的时间,具有长效作用。薄膜-超声分散法是制备长循环脂质体的一种常用方法,有学者以大豆卵磷脂,胆固醇和聚乙二醇2000-二硬脂酸磷脂乙醇胺(PEG2000-DSPE)为载体材料成功制备了冬凌草甲素长循环脂质体,其体外释药研究表明:该脂质体中的冬凌草

甲素在 96 h 时基本释放完全,而普通脂质体在 48 h 已基本释放完全,将冬凌草甲素制成长效循环脂质体的缓释效果明显比普通脂质体好<sup>[18]</sup>。

**1.4 微乳** 纳米乳与亚微乳以往均称为微乳(microemulsion)。纳米乳(nanoemulsion)是指粒径为 10 ~ 100 nm 的乳滴分散在另一种液体介质形成的热力学稳定的胶体溶液。亚微乳(submicroemulsion)乳滴的粒径在 100 ~ 1 000 nm,其稳定介于纳米乳与普通乳(乳滴大小 1 ~ 100  $\mu\text{m}$ ),热压灭菌时间太长或两次灭菌容易分层。

**1.4.1 自微乳** 自微乳给药系统(self-emulsifying drug delivery systems, SEDDSs),是指包含油相,表面活性剂和助表面活性剂的液体或固体剂型,它不含有水相,可以在适宜的环境(37  $^{\circ}\text{C}$ ,水相)温和搅拌而自发形成微乳的给药系统。自微乳给药系统作为一种新兴的剂型,它可以改善药物的水溶性,提高生物利用度,并且能有效地控制药物的释放,具有广泛的应用前景<sup>[19]</sup>。目前,国内外有不少研究者利用自微乳给药系统的优势来弥补冬凌草甲素临床应用的缺陷,并且取得了一定的进展。刘颖<sup>[20]</sup>等以 maisine35-1-labrafac CC(1:1)为油相,cremophor EL 为表面活性剂,transcutol P 为助表面活性剂成功制得了冬凌草甲素自微乳制剂,并采用反相透析法考察冬凌草甲素的体外释药行为发现:该自微乳释药较快,在 30 min 是已有 60% 的药物释出,因此推测其在体内也能较快地释药。另一研究采用相同的处方制备冬凌草甲素自微乳,发现与混悬剂相比,自微乳中冬凌草甲素的生物利用率提高了 2.2 倍,对 H22 移植性肿瘤模型小鼠的肿瘤抑制作用的研究结果显示:自微乳具有良好的抗肿瘤作用,其效果明显优于冬凌草甲素,且在有效剂量下,对荷瘤小鼠的脏器指数,体质量影响较小,并有延长生命的作用<sup>[21-22]</sup>。

**1.4.2 亚微乳** 亚微乳常作为胃肠外给药的载体,其特点主要有:提高药物稳定性,降低毒副作用,提高体内及经皮的吸收,使药物缓释,控释或具有靶向性等<sup>[23]</sup>。有研究者对冬凌草甲素亚微乳注射剂的制备研究发现:冬凌草甲素在酸性条件下稳定,而乳滴粒径在偏碱性条件下较稳定,若在处方中加入阳性脂质二甲基双十八烷基溴化铵(DDAB),则可制得稳定性较高的亚微乳,其在 pH6.0 是药物降解最少,同时灭菌后粒径变化很小<sup>[24]</sup>。乳剂产品研发的关键在于保持其稳定性,而采用上述处方制得的亚微乳经考察具有较高的物理化学稳定性,具有现实的临床意义。

**1.5 共聚物胶束** 聚合物胶束(polymeric micelles)是由合成的两亲性嵌段共聚物在水中自组装形成的一种热力学稳定的胶体溶液。聚合物胶束常用的制备方法有:自组装溶剂蒸发法,透析法,乳化-溶剂挥发法,化学结合法。张文涛<sup>[25]</sup>等采用溶剂扩散法,并通过考察其处方影响因素及制备工艺,成功地制备了较小粒径的冬凌草甲素嵌段共聚物胶束,经体外溶出实验发现其具有一定的缓释性,但由于仍存在包封率及载药量偏低等缺点,因此该处方工艺还有待改进。有研究以单甲醚聚乙二醇-聚乳酸作为载体,分别采用丙酮溶

剂挥发法和透析法制备冬凌草甲素嵌段共聚物胶束,结果显示:采用丙酮溶剂挥发法制备的胶束载药性较好,而采用透析法制备的胶束则粒径较小,分散均匀度较优。但这两种胶束溶液中药物的浓度都要比冬凌草甲素在水中的溶解度高出 4 倍,表明难溶性药物制成共聚物胶束后溶解性可明显提高<sup>[26]</sup>。

**1.6 纳米混悬剂** 纳米混悬剂(nanosuspensions)是在药物中加入适宜的表面活性剂而形成的纯药物纳米级胶体分散体系,其粒径在一般在 200 ~ 500nm 之间。纳米混悬剂与传统的纳米给药系统不同,它不需要纳米载体骨架的支持,仅靠表面活性剂来维持稳定。因此,与传统纳米剂型相比,它不仅保留纳米剂型提高药物水溶性、生物利用度等优点,也能降低因载体材料引起的不良反应,增加药物的安全性<sup>[27-28]</sup>。高压均质法是制备纳米混悬剂常用的方法之一,用该法制得的冬凌草甲素纳米混悬剂,经体外溶出试验验证,其饱和溶解度和溶解速度较冬凌草甲素均有所提高<sup>[29]</sup>。此外,冬凌草甲素纳米混悬剂的体内和体外抗肿瘤活性研究发现:与冬凌草甲素溶液 42.49% 的肿瘤抑制率相比,纳米混悬剂的肿瘤抑制率高达 60.23%,肿瘤抑制作用明显增强,具有较好的应用前景<sup>[30]</sup>。

## 2 展望

作为一种抗癌活性较好的药物,冬凌草甲素一直以来都备受关注,传统的冬凌草甲素因味道极苦,难溶于水且生物利用率低等缺点,影响了其在临床上的广泛应用。如何克服以上缺点,提高其适用性仍是国内外学者研究的热点,主要集中在以下两方面:①对冬凌草甲素的结构进行修饰,以提高其水溶性;②研究开发新剂型,以改善其临床运用。冬凌草甲素纳米制剂作为一种给药新剂型,在安全性、稳定性、药效学及药动学等方面均有一定的优势,具有良好的开发潜力。笔者相信,在不久的将来,将会有更多性能较好的冬凌草甲素纳米制剂被研制开发,广泛应用于临床,造福人类。

## [参考文献]

- [1] 刘家云,魏敏,顾琴龙. 冬凌草甲素抗肿瘤的研究进展[J]. 中国新药与临床杂志,2010(2):81.
- [2] 冉倩,徐进宜,吴晓明,等. 冬凌草甲素的研究进展[J]. 药学与临床研究,2007(2):91.
- [3] 李翔,叶利洪,李继承. 冬凌草甲素抗肿瘤活性及其机制[J]. 细胞生物学杂志,2009(3):313.
- [4] 王福民. 环糊精及其包合物的研究与应用[J]. 化工时刊,2003(7):4.
- [5] 张雁冰,寇娴,卢建莎,等. 冬凌草甲素- $\beta$ -环糊精包和物的研究[J]. 中药材,1994(4):204.
- [6] 刘培丽,杨琳琳,王永圣,等. 羟丙基- $\beta$ -环糊精对冬凌草二萜类成分的包合作用[J]. 沈阳药科大学学报,2006(9):557.
- [7] 张英华. 新型纳米粒的研究进展[J]. 现代医药卫生

- 生,2008(22):3408.
- [ 8 ] 胡俊,刘玉玲. 载药纳米粒的研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2004(5):310.
- [ 9 ] Feng N, Wu P, Li Q, et al. Oridonin-loaded-poly ( epsilon-caprolactone )-poly ( ethylene oxide )-poly ( epsilon-caprolactone ) copolymer nanoparticles: preparation, characterization, and antitumor activity on mice with transplanted hepatoma [J]. J Drug Target, 2008, 16(6): 479.
- [10] 张典瑞,任天池,娄红祥,等. 冬凌草甲素硬脂酸固态类脂纳米粒的实验研究[J]. 药学杂志,2004(2):123.
- [11] 张典瑞,任天池,娄红祥,等. 冬凌草甲素固态类脂纳米粒在小鼠体内的组织分布及兔体内的药代动力学[J]. 药科学报,2005(6):573.
- [12] 张志清,康英,王育红. 聚乳酸纳米粒给药系统研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2002(9):555.
- [13] 许洁,王菊,冯年平,等. 星点设计-效应面法优化冬凌草甲素聚乳酸纳米粒的制备工艺[J]. 药学实践杂志,2009(5):345.
- [14] Xing J, Zhang D, Tan T. Studies on the oridonin-loaded poly(D,L-lactic acid) nanoparticles *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Biol Macromol, 2007, 40(2): 181.
- [15] 孙欣欣,金楠. 脂质体研究进展[J]. 医学研究杂志,2009(12):20.
- [16] 王汝兴,张宇丽. 脂质体的研究进展及其制备方法[J]. 承德医学院学报,2008(2): 183.
- [17] 杨彤. 新型脂质体的研究进展[J]. 医药导报,2009(3): 336.
- [18] 王传金. 冬凌草甲素长循环脂质体的研究[D]. 南京:南京理工大学,2009.
- [19] 周颖,刘玮. 微乳及自微乳给药系统的药学应用进展[J]. 西北药学杂志,2008(1):56.
- [20] 刘颖,张萍,冯年平,等. 冬凌草甲素自微乳给药系统的体外释放动力学研究[J]. 中国中药杂志,2008(18): 2049.
- [21] 巫珊,顾伟梁,冯年平,等. 冬凌草甲素自微乳对小鼠移植性肿瘤 H22 的抑制作用[J]. 中药新药与临床药理,2010(6): 567.
- [22] Zhang P, Liu Y, Feng N, et al. Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system of oridonin[J]. Int J Pharm, 2008, 355(1/2): 269.
- [23] 游荣辉,丛龙波,袁海龙. 静脉亚微乳研究进展及其在现代中药研究中的运用[J]. 中草药,2007(6): 946.
- [24] 于力,全新勇,谭燕. 冬凌草甲素亚微乳的制备及其特性表征[J]. 中国中药杂志,2009(20):2590.
- [25] 张文涛,王东凯,何晓霞,等. 冬凌草甲素嵌段共聚物胶束的制备与表征[J]. 中国新药杂志,2009(16):1560.
- [26] 匡长春,杜葳,王薇. 冬凌草甲素嵌段共聚物胶束的制备[J]. 医药导报,2010(10):1334.
- [27] 孙晓革. 纳米混悬剂及其制剂研究进展[J]. 中国药业,2010(13):84.
- [28] 曹丹. 纳米混悬剂的研究新进展[J]. 科技信息,2010(28):109.
- [29] Gao L, Zhang D, Chen M, et al. Preparation and characterization of an oridonin nanosuspension for solubility and dissolution velocity enhancement [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2007, 33(12): 1332.
- [30] Lou H, Zhang X, Gao L, et al. *In vitro* and *in vivo* antitumor activity of oridonin nanosuspension[J]. Int J Pharm, 2009, 379(1): 181.

[责任编辑 全燕]