

# 大黄素新型制剂抗肿瘤作用研究进展

马明星<sup>1,2</sup>, 黄嬛<sup>1</sup>, 李明娟<sup>1</sup>, 蒋小红<sup>1\*</sup>

(1. 嘉兴学院医学院, 浙江嘉兴 314001; 2. 华东理工大学药学院, 上海 200237)

**摘要** 通过检索近几年中外相关研究文献, 概述了大黄素固体脂质纳米粒、包合物、聚合物胶束、脂质体、纳米乳等新型载药系统的制备工艺、工艺优化和包封率情况; 同时进一步介绍了大黄素新型制剂在发挥抗肿瘤药效时具有的组织相容性好、治疗浓度低、靶向性好、药物溶解度高、半衰期久等显著优势, 为大黄素新型制剂抗肿瘤的进一步研究提供试验依据和理论参考。

**关键词** 大黄素; 新剂型; 抗肿瘤

**中图分类号** R73 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)27-0144-03

## Research Progress of Anti-tumor Effects of Emodin New Preparation

MA Ming-xing<sup>1,2</sup>, HUANG Xuan<sup>1</sup>, LI Ming-juan<sup>1</sup>, JIANG Xiao-hong<sup>1\*</sup> (1. School of Medicine, Jiaxing University, Jiaxing, Zhejiang 314001; 2. School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

**Abstract** By retrieving relevant literatures both at home and abroad in recent years, we summarized the preparation process, process optimization and encapsulation of emodin new delivery system, including solid lipid nanoparticles, clathrate compounds, polymeric micelles, liposomes, nanoemulsion and so on. Meanwhile, several significant advantages of emodin new formulations when playing an anti-tumor role were further introduced, which had the advantages of good bio-compatibility, low treatment concentration, good target specific selectivity, high solubility and long half-life. This research provided experimental evidence and theoretical reference for the further study of anti-tumor of emodin novel preparation.

**Key words** Emodin; New preparation; Anti-tumor

传统中药(TCM)由于其毒性小、副作用少、成本低而被广泛应用于临床研究<sup>[1]</sup>。大黄素(emodin, EMO, 1'3'8-三羟基-6-甲基蒽醌)是一类蒽醌类化合物(图1), 主要从传统中草药中分离提取获得, 经证明具有显著的抗肿瘤活性。大黄素可以通过多种信号通路途径发挥抗肿瘤作用<sup>[2-4]</sup>, 且对多种肿瘤细胞均有较明显的促凋亡、抗增殖、抗氧化和免疫刺激作用<sup>[5]</sup>。

根据BCS分类, 大黄素属于其中的第二类物质, 即低溶解性、高渗透性。尽管大黄素具有广泛而又可观的生物活性, 但大黄素的蒽醌类结构决定其水溶性很差几乎不溶于水系。研究表明, 大黄素在HBSS(Hank's平衡盐溶液)中的溶解度仅为14 μg/mL, 而在pH 11.0和pH 12.0的缓冲溶液环境中溶解度大幅增加<sup>[6]</sup>, 但这与体内生理环境pH并不相符。治疗性药物主要通过血液运输, 因此, 溶解度直接影响吸收和生理分布。限于此, 就迫切需要在不降低药物本身生理活性的条件下改善药物溶解度, 从而提高药物生物利用度。因此, 新剂型的研究就显得更加重要。笔者针对近几年大黄素新型制剂的特点和抗肿瘤活性进行了总结。

### 1 大黄素固体脂质纳米粒(E-SLN)

固体脂质纳米粒(Solid lipid nanoparticles, SLN)是一种由生理相容的高熔点固态脂质材料为载体制备的粒径为10~1 000 nm的固体胶粒给药系统。高压乳匀化法制备固体脂质纳米粒是实验室常用的可靠技术, 而微乳法制备固体脂质纳米粒不要求特殊设备和复杂程序就能得到分散指数(PDI)较小、亚微米范围内的颗粒。目前国外正在利用微乳化技术研究大规模制备SLN, 除此以外, 还有薄膜超声分散

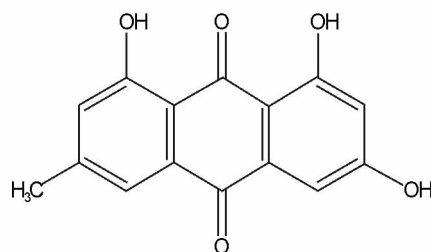


图1 大黄素化学结构

Fig. 1 Chemical structure of emodin

法、乳化蒸发低温固化法、热熔超声法、溶剂乳化超声法、复乳溶剂扩散法。固体脂质纳米粒的多种制备方法各有优缺点, 其中高压乳匀法和微乳法最为常用<sup>[7]</sup>。

Wang等<sup>[8]</sup>通过试验初步优化了SLN的制备工艺, 主要对脂质的种类、HPH的压力和周期、脂质浓度、不同药脂比等5个影响因素进行了考察, 最终选择硬脂酸为脂质、700 bar 4次均质周期为最佳条件、最适合的脂质浓度为35 mg/mL、最合适药脂比1 g脂质包裹良好的药物量大约为30 mg, 最终得到粒子大小合适、物理稳定性好、理想包封率的EMO-SLN; 噻唑蓝比色法(MTT)试验结果表明, 48 h内在乳腺癌细胞MDA-MB-231中EMO-SLN比游离EMO抗肿瘤活性更强, 游离EMO对MDA-MB-231作用12、24、48 h后的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为39.66、29.07、26.05 μmol/L, 而EMO-SLN的IC<sub>50</sub>分别降低至20.40、12.06、7.88 μmol/L。由此可见, EMO-SLN和游离的EMO相比能更有效地靶向癌细胞发挥治疗作用。大黄素在制备成SLN后, 一方面改变了其水溶性差的缺点。另一方面, 由于SLN制备材料具有良好的生物相容性, 容易被细胞通过网格蛋白消耗能量发挥内吞作用进入胞浆<sup>[9]</sup>, 提高癌细胞对EMO的摄取和利用, 从而提高大黄素生物利用度。在动物水平, EMO-SLN和游离大黄素在以小鼠为模型的体内均符合二室模型, 且EMO-

**基金项目** 嘉兴市科技计划项目(2014AY21037)。

**作者简介** 马明星(1989-), 女, 安徽宿州人, 硕士研究生, 研究方向: 中药新剂型抗肿瘤。\*通讯作者, 高级实验师, 硕士, 从事药物新剂型和新剂型研究。

**收稿日期** 2016-08-18

SLN 和游离大黄素相比表现出了明显的缓释效果<sup>[10]</sup>。

总的来说,SLN 与其他新剂型相比较为成熟。与传统制剂相比,SLN 既具有纳米粒的物理稳定性高、药物泄露少、缓释性好的特点,又有毒性低、载药 SLN 经热压灭菌和高速离心不被破坏易于大规模生产的优点,是一种极具发展前景的药物新剂型。

## 2 大黄素聚合物胶束

聚合物胶束(polymeric micelles)是由两亲性嵌段共聚物在水溶液中自组装形成的分子有序聚集体,具有球形的疏水性内核亲水性外壳结构,是一种热力学稳定的胶体溶液。作为药物载体,具有稳定、低毒、缓释、靶向的优点。目前,已有用于癌症治疗的 6 种聚合物胶束正进行临床试验。其中,NK911 和 SP1049C 2 个系统拥有典型 Pka 数据,与游离药物相比阿霉素胶束制剂循环时间分别增加了 3.5 倍(NK911)和 3.1 倍(SP1049C),同时 2 种胶束系统半衰期( $t_{1/2}$ )较游离药物相比得到一定提高<sup>[11]</sup>。针对大黄素的聚合物胶束主要有 soluplus(聚乙二醇-乙烯基己内酰胺-醋酸乙烯酯共聚物)。典灵辉等<sup>[12]</sup>通过薄膜分散法制备得到大黄素聚合物胶束(Emo-PMs),平均包封率可达(88.25 ± 3.51)%。

大黄素体外活性很高,但溶解性能差,聚合物胶束以其独特的特点与大黄素形成优势互补,提高大黄素的治疗作用。在制备载药胶束的同时可针对肿瘤细胞环境的特异性如肿瘤细胞环境与外界环境 pH 差异和还原性差异对胶束进行进一步修饰,提高载药胶束在体内的靶向和释放。大黄素胶束的载体选择和载体修饰具有进一步研究价值。

## 3 大黄素包合物

包合物(clathrate compounds)是指主分子将客分子包含于空穴结构内而形成的特殊复合物,其中被包裹的药物称客分子,能使许多分子量大小和极性相当的有机物进入空腔形成包合物的分子为主分子。包合材料主要有  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  3 种环糊精(Cyclodextrin,CD),其中以  $\beta$ -CD 最为常用但溶解度最低,因此衍生出溶解度较好的  $\beta$ -CD 衍生物 HP- $\beta$ -CD、M- $\beta$ -CD 等。

目前对大黄素的包合材料主要有  $\beta$ -CD、HP- $\beta$ -CD、M- $\beta$ -CD。天然的  $\beta$ -CD 虽然具有合适的空穴大小,毒性也很低,但其水溶性较差限制其应用,而经过修饰的 HP- $\beta$ -CD、M- $\beta$ -CD 由于取代基扩大了自身的包合能力、破坏了氢键网络,为客分子进入空穴提供了更好的条件<sup>[13]</sup>。安松松<sup>[14]</sup>研究发现大黄素的溶解度随着  $\beta$ -CD 浓度增加而提高,大黄素与  $\beta$ -CDs 的包合能力顺次增加。夏翠英等<sup>[15]</sup>在以 HP- $\beta$ -CD 为材料制备大黄素包合物的过程中发现,最佳投料比(大黄素:HP- $\beta$ -CD)为 1:18、最适包合时间和温度分别为 2 h 和 60 °C 时包合工艺最优;以包合物溶解度为指标时,测得包合物溶解度较游离大黄素溶解度增加约 280 倍。

大黄素浓度在 5~40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内时,鼻咽癌 CNE-1 细胞对大黄素的摄取主要通过简单扩散的方式,细胞摄取药量与大黄素的浓度成正比,且包合物在包内起到缓释的效

果<sup>[16]</sup>。说明大黄素包合物这一新剂型能够被细胞摄取进入胞浆,并在胞内释放发挥药效,提高药物利用度和抗肿瘤作用。

## 4 大黄素脂质体

脂质体(liposomes)是指两亲性分子分散于水相后形成双分子层囊泡结构,这种类似超微囊结构可将药物包裹其中。磷脂和胆固醇等类脂常用于制备脂质体,具有良好的组织相容性,保障了细胞对脂质体这一新剂型的摄取利用。

在大黄素脂质体的制备和抗肿瘤的研究中,徐贤绸等<sup>[17]</sup>通过薄膜-超声分散法制备的大黄素脂质体呈浅黄色、类球形、透明状胶体,包封率可高达(98.26 ± 0.38)%;将胰腺癌细胞 SW1990 注入裸鼠皮下成瘤,随后分别用吉西他滨 100 mg/kg、大黄素 10 mg/kg、大黄素脂质体 5 mg/kg、大黄素脂质体 10 mg/kg 给予治疗,结果发现,大黄素脂质体(10 mg/kg)抗裸鼠胰腺癌肝转移瘤的效果与阳性药吉西他滨(100 mg/kg)相当,比游离大黄素效果更明显且副作用小。索绪斌等<sup>[18]</sup>利用乙醇注入法在分散介质中加入适量的  $\text{Ca}^{2+}$  制备得到包封率高、重现性好的大黄素脂质体。采用逆相蒸发法制备大黄素脂质体的平均包封率也高达 90.6%,并证明对 Hep-2 细胞的生长存在明显的抑制作用,大黄素脂质体有明显的抗肿瘤活性<sup>[19]</sup>。

D- $\alpha$ -生育酚琥珀酸聚乙二醇酯(TPGS)是维生素 E 聚乙二醇化的衍生物,Wang 等<sup>[20]</sup>比较 TPGS 修饰和 mPEG2000-DSPE 修饰的大黄素脂质体发现,TPGS 可将脂质体的包封率提高至(95.2 ± 3.0)%,相比 mPEG2000-DSPE 脂质体,脂质体 TPGS 在肝肾脏器中循环时间更久,药时曲线面积(AUC)增加 1.7 倍。经研究发现,大黄素脂质体纳米颗粒通过支架丝心蛋白(SF)和壳聚糖(CS)包埋在乳腺切除后的乳腺癌模型的大鼠体内,可有效预防和治疗大鼠乳腺癌复发<sup>[21]</sup>。说明大黄素脂质体能够有效抑制肿瘤,脂质体与细胞膜成分相似,生物相容性好且安全无毒。在 20 世纪,抗癌药柔红霉素脂质体已经上市,其他抗癌和基因脂质体的发展也日趋成熟,脂质体在抗肿瘤研究、肿瘤耐药研究等领域展示独特的发展前景。

## 5 大黄素纳米乳

纳米乳(nanoemulsion)是由油、乳化剂、助乳剂和水组成的粒径介于 10~100 nm 的非均衡乳液,与聚合物胶束相比不能自发形成,它能够提高易降解物质的生物利用度和对环境的耐受性。与其他新剂型相比,纳米乳具有独特的优势,即制备工艺简单且制备效果较好(粒径小且均匀);耐热压灭菌和高速离心;可用于多种给药途径<sup>[22]</sup>。许多学者对大黄素纳米乳的制备工艺进行不断优化,同时考察了大黄素纳米乳的理化性质、细胞药效和体内药代动力学。如 Shi 等<sup>[23]</sup>采用超声乳化法制备纳米乳,最优配方由 11.84%(W/W)丙二醇单辛酸酯(包含主药大黄素)、20.16%(W/W)氢化蓖麻油聚氧酯 40 或二乙二醇单乙基醚,超声条件为 156 W、23.42 min;体外释放发现 120 h 内约有(80.79 ± 1.11)%的大黄素释放,证明起到了缓释长效的目的。按曹琴<sup>[24]</sup>优化

的最佳处方(IPM: Tween80: 甘油: 水的比例为5: 32: 8: 200)制备得到的大黄素纳米乳的粒径为 $(9.92 \pm 2.28)$  nm; 大黄素纳米乳与游离大黄素相比, 能更有效地诱导 Caco-2 细胞凋亡, 将细胞周期阻滞于 G0/G1 期。李会丽<sup>[25]</sup>采用超声乳化法制备大黄素纳米乳, 并依次对大黄素纳米乳的处方成分、处方组成、制备工艺进行考察得到最适制备处方和工艺; 同时发现 SD 大鼠对大黄素纳米乳表现出消除减慢、滞留时间久、生物利用度高的一系列缓释现象。Shi 等<sup>[26]</sup>通过荧光检测小鼠血浆和组织内大黄素纳米乳和游离大黄素含量发现, 大黄素纳米乳的药时曲线面积(AUC)、血浆药物峰浓度( $C_{max}$ )、半衰期( $t_{1/2}$ )和药物滞留时间(MRT)分别是大黄素的 2.37、1.62、3.99 和 2.39 倍。由此可见, 纳米乳这一新剂型的使用成倍地提高了大黄素的生物利用度, 起改善大黄素溶解度、延长药物体内滞留时间、提高药效的作用, 是一种可靠的药物新剂型。

## 6 大黄素其他新剂型

除上述几种大黄素新剂型外, 大黄素新型制剂还包括大黄素固体分散体、大黄素微丸等, 但应用并不十分广泛。

## 7 结语

大黄素由于具有广泛且明显的抗肿瘤活性而备受关注, 大黄素新剂型如固体脂质纳米粒、聚合物胶束、包合物、脂质体、纳米乳的应用不但显著地提高了疗效, 且在提高疗效的基础上起到有效治疗剂量小、副作用少、作用缓释的作用。新剂型在药效方面改善了溶解度、有目的地靶向运输药物, 又避开了普通制剂可能带来的不良反应。这些新剂型具有其他新剂型的基本特点(改善药物溶解度、提高药效等), 又各具特色, 可以在实际应用中根据需求甄别应用。

通过检索文献可以看出大黄素新剂型种类繁多, 制备方法各异。如何进一步改善修饰载体精准地靶向抗肿瘤、如何制定出稳定性高且重复性好的处方、制备大规模生产工艺仍是未来新剂型的研究方向, 以期更好地发挥药效用于临床。

## 参考文献

- [1] HSU S C, CHUNG J G. Anticancer potential of emodin[J]. *Bio Medicine*, 2012, 2(3): 108-116.
- [2] BLASI P, GIOVAGNOLI S, SCHOUBBEN A, et al. Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2007, 59(6): 454-477.
- [3] CHATTOPADHYAY P, SHEKUNOV B Y, YIM D, et al. Production of solid lipid nanoparticle suspensions using supercritical fluid extraction of emulsions(SFEE) for pulmonary delivery using the AERx system[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2007, 59(6): 444-453.
- [4] CHEN Y Y, CHIANG S Y, LIN J G, et al. Emodin, aloe-emodin and rhein inhibit migration and invasion in human tongue cancer SCC-4 cells through

the inhibition of gene expression of matrix metalloproteinase-9[J]. *International journal of oncology*, 2010, 36(5): 1113-1120.

- [5] HARLEV E, NEVO E, LANSKY E P, et al. Anticancer potential of aloes: Antioxidant, antiproliferative, and immunostimulatory attributes[J]. *Planta Med*, 2012, 78(9): 843-852.
- [6] 刘薇, 叶玲, 赵洁, 等. 高效液相色谱法考察大黄素在 HBSS 溶液中的溶解度及其稳定性[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009(8): 1775-1777.
- [7] 夏爱晓, 宋倩倩, 孙渊. 固体脂质纳米粒制备及应用研究进展[J]. *药学实践杂志*, 2012(5): 331-334, 368.
- [8] WANG S P, CHEN T K, CHEN R, et al. Emodin loaded solid lipid nanoparticles: Preparation, characterization and antitumor activity studies[J]. *Int J Pharm*, 2012, 430: 238-246.
- [9] MARTINS S, COSTA-LIMA S, CARNEIRO T, et al. Solid lipid nanoparticles as intracellular drug transporters: an investigation of the uptake mechanism and pathway[J]. *International journal of pharmaceutics*, 2012, 430(1): 216-227.
- [10] 张洪, 张福明, 闫士君. 大黄素固体脂质纳米粒在大鼠体内的药理学研究[J]. *中国药师*, 2011(2): 173-175.
- [11] OWEN S C, CHAN D P Y, SHOICHET M S. Polymeric micelle stability[J]. *Nano Today*, 2012, 7(1): 53-65.
- [12] 典灵辉, 于恩江, 程纪伦, 等. 大黄素 soluplus 聚合物胶束的制备及质量评价[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014(16): 15-18.
- [13] YANG L J, CHEN W, MA S X, et al. Host-guest system of taxifolin and native cyclodextrin or its derivative: Preparation, characterization, inclusion mode, and solubilization[J]. *Carbohydrate polymers*, 2011, 85(3): 629-637.
- [14] 安松松.  $\beta$ -环糊精及其衍生物包合物的研究与分析应用[D]. 兰州: 兰州大学, 2013: 49-52.
- [15] 夏翠英, 李勇, 程建明. 正交试验法制备大黄素包合物工艺优选研究[J]. *现代中药研究与实践*, 2004(3): 51-53.
- [16] 王春苗, 侯华新, 黎丹戎, 等. 激光扫描共聚焦显微镜观测大黄素  $\beta$  环糊精包合物在鼻咽癌细胞的跨膜转运及分布[J]. *中国激光*, 2014(5): 92-96.
- [17] 徐贤绸, 温培楠, 王兆洪, 等. 大黄素治疗裸鼠胰腺癌肝转移瘤的实验研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2014(3): 207-210.
- [18] 索绪斌, 刘艳, 吴燕红, 等. 脂质体对大黄素游离醌类成分的包封及其质量控制[J]. *中药材*, 2010, 33(4): 614-616.
- [19] 雷瑶, 王志洁, 邱国福, 等. 大黄素脂质体对 Hep-2 细胞毒的检测[J]. *武汉大学学报(理学版)*, 2006, 52(2): 247-251.
- [20] WANG T C, YIN X D, LU Y P, et al. Formulation, antileukemia mechanism, pharmacokinetics, and biodistribution of a novel liposomal emodin[J]. *International journal of nanomedicine*, 2012, 7: 2325-2337.
- [21] GUPTA V, MUN G H, CHOI B, et al. Repair and reconstruction of a resected tumor defect using a composite of tissue flap-nanotherapeutic-silk fibroin and chitosan scaffold[J]. *Annals of biomedical engineering*, 2011, 39(9): 2374-2387.
- [22] LAWRENCE M J, REES G D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2012, 64: 175-193.
- [23] SHI Y B, LI H L, LI J C, et al. Development, optimization and evaluation of emodin loaded nanoemulsion prepared by ultrasonic emulsification[J]. *Journal of drug delivery science and technology*, 2015, 27: 46-55.
- [24] 曹琴. 大黄素纳米乳的制备及体外抗大肠癌 Caco-2 细胞的研究[D]. 郑州: 河南中医学院, 2013: 18-35.
- [25] 李会丽. 大黄素纳米乳递释系统的优化及其药物动力学研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2015: 13-39.
- [26] SHI Y B, LI J C, REN Y, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of emodin loaded nanoemulsion in rats[J]. *Journal of drug delivery science and technology*, 2015, 30: 242-249.

(上接第 143 页)

- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 389-390.
- [4] 王海波, 邸学, 袁丹, 等. 凯氏定氮测定钩藤饮片总氮含量研究[J]. *时珍国医医药*, 2013, 24(7): 1559-1560.
- [5] 武金霞, 高洁, 张贺迎, 等. 硫代硫酸钠滴定法测定淀粉 DE 值[J]. *中国*

酿造, 2008(16): 91-92.

- [6] 林国平, 何兆雄. 胃蛋白酶、胃膜素联产提取工艺改进[J]. *中国医药工业杂志*, 1989, 20(5): 193-195.
- [7] 董娜, 董文宾, 田颖. 猪胃黏膜中胃膜素提取工艺的优化[J]. *食品科学*, 2011, 32(2): 39-42.