

## 番荔枝素亚微乳的制备及其抗肿瘤作用研究

肖瑶<sup>1,2</sup>, 苏文晶<sup>3</sup>, 张明珠<sup>3</sup>, 洪靖怡<sup>2</sup>, 王向涛<sup>2\*</sup>

1. 黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部实验室, 北京 100193

3. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

**摘要:** **目的** 制备番荔枝素亚微乳, 并进行体内外抗肿瘤作用研究, 为番荔枝素的口服给药提供可行方案。 **方法** 以离心稳定常数 ( $K_e$ ) 为指标, 采用正交试验对注射用大豆油的用量、混合乳化剂总量和混合乳化剂的质量比进行考察, 优化最佳处方配比。考察纳米乳匀机的运转压力和运转次数对番荔枝素亚微乳的粒径大小和分布的影响, 优化工艺参数。透射电镜观察最佳工艺所得番荔枝素亚微乳, 考察其在生物介质中的稳定性。采用噻唑蓝 (MTT) 比色法评价番荔枝素亚微乳对鼠乳腺癌 4T1、人黑色素瘤 A875 细胞和人肝癌细胞 HepG2 的细胞毒性。建立鼠源肝癌 H22 细胞实体瘤模型, 小鼠 ig 番荔枝素亚微乳、番荔枝素油溶液, 计算抑瘤率。 **结果** 番荔枝素亚微乳的最佳处方配比和制备工艺为: 注射用大豆油用量为 10%, 乳化剂总量为 3%, 其中精制蛋黄卵磷脂与聚山梨酯 80 质量比为 8:2; 均质压力为 1 500 bar, 均质次数为 9 次。番荔枝素亚微乳在人工胃液中稳定, 呈球形, 粒径较小, 主要在 100 nm 左右。番荔枝素亚微乳对 4T1、A875、HepG2 细胞  $IC_{50}$  值分别为 3.082、2.001、1.762  $\mu\text{g/mL}$ ; ig 给药 1 mg/kg 番荔枝素亚微乳与 4 mg/kg 油溶液对 H22 荷瘤鼠的抑瘤效果相当 (65.0% vs 56.5%)。 **结论** 番荔枝素亚微乳可以解决番荔枝素难溶于水、难于给药的问题, 能在不降低疗效的同时将用药剂量降低到传统油溶液的 1/4, 在一定程度上具有增效减毒作用。

**关键词:** 番荔枝素亚微乳; 离心稳定常数; 制备; 正交试验; 抗肿瘤作用

**中图分类号:** R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)09-1325-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.09.003

## Preparation of annonaceous acetogenins submicroemulsion and its anti-tumor activity

XIAO Yao<sup>1,2</sup>, SU Wen-jing<sup>3</sup>, ZHANG Ming-zhu<sup>3</sup>, HONG Jing-yi<sup>2</sup>, WANG Xiang-tao<sup>2</sup>

1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. The Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 10019, China

3. Life Sciences and Environmental Sciences Center, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

**Abstract: Objective** To prepare annonaceous acetogenins submicroemulsion and study its anti-tumor activities *in vitro* and *in vivo*, so as to provide a feasible solution for oral administration of annonaceous acetogenins. **Methods** Centrifugal stability constant ( $K_e$ ) was used as indexes, factors of formulation, such as the amount of soybean oil for injection, the total amount of mixed emulsifier, and the mass ratio of mixed emulsifier were optimized by orthogonal test. Effect of process parameters operation pressure and operation frequency on particle size and distribution of annonaceous acetogenins submicroemulsion were investigated. Annonaceous acetogenins submicroemulsion obtained by the best parameters was observed with TEM, and its stability in biological media was also investigated. MTT assay was used to evaluate the *in vitro* anticancer cytotoxic activity against mice breast cancer 4T1, human melanoma A875, and human hepatic cancer HepG2 cell lines. Solid tumor model on basis of murine hepatic cancer H22 cell were established and mice were ig administrated with annonaceous acetogenins submicroemulsion and oil solution to obtain the tumor inhibition rate. **Results** The optimal formulation was as following: 10% injectable soy oil, 3% combinatorial emulsifier (the weight

收稿日期: 2016-06-21

基金资助: 国家自然科学基金资助项目 (U1401223, 81460734)

作者简介: 肖瑶 (1992—), 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 硕士研究生, 研究方向为药物新剂型。Tel: 18811545437 E-mail: xyxy4804@163.com

\*通信作者 王向涛 (1973—), 男, 河南洛阳人, 研究员, 博士, 主要从事药物新剂型研究。Tel: (010)57833266 E-mail: xtaowang@163.com

ratio of purified SPE : Tween 80 being 8 : 2 in the composition of the combinatorial emulsifier). The optimal homogenization condition was 1 500 bar for 9 cycles. Annonaceous acetogenins submicronemulsion showed good stability in artificial gastric and intestinal juice, and was spherical, with smaller particle size, mainly around 100 nm. Annonaceous acetogenins submicronemulsion showed strong cytotoxicity against 4T1, AB75, and HepG2 cell lines with  $IC_{50}$  values 3.082, 2.001, and 1.762  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Annonaceous acetogenins submicronemulsion administration of 1 mg/kg achieved the same anti-tumor efficacy as that of 4 mg/kg of oil solution on H22 tumor-bearing mice (65.0% vs 56.5%). **Conclusion** Annonaceous acetogenins submicronemulsion effectively resolves poor solubility and difficulty to be delivered *in vivo*, and can reduce the dose to 1/4 in contrast to oil solution, and meanwhile maintain similar anti-tumor efficacy.

**Key words:** annonaceous acetogenins submicroemulsion; centrifugal stability constant; preparation; orthogonal test; anti-tumor

番荔枝是从番荔枝科植物种子中分离得到的一类长链内酯类化合物,因其显著的抗肿瘤作用,曾被称为“明日抗癌之星”<sup>[1]</sup>。番荔枝素中泡番荔枝辛(bullatacin)对乳腺癌的杀伤作用是阿霉素的 100 倍,对肝癌的杀伤作用是五氟尿嘧啶的 10~100 倍<sup>[2]</sup>。另外,其抗肿瘤作用机制独特,作用于线粒体呼吸链,还能逆转多药耐药等特性<sup>[2-3]</sup>。但番荔枝素在水中不溶、成分复杂、毒副作用大,限制了进一步应用。亚微乳是由水、油、乳化剂和助乳化剂按适当比例混合,在高压乳匀机制备,外观不透明或成乳状<sup>[4]</sup>。本研究通过正交试验筛选最佳处方配比,并制备番荔枝素亚微乳,以期提高番荔枝素的生物利用度和药效,并降低给药剂量和毒性。

## 1 材料和仪器

### 1.1 材料

番荔枝素由中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所斯建勇研究员课题组提供,批号 20160112,含番荔枝素 K20、GK23、K437、K19、K16 质量分数分别为 3.470%、1.593%、7.729%、37.387%、8.984%,总质量分数为 59.163%;精制蛋黄卵磷脂(广州白云山汉方现代药业有限公司,批号 A4150920);大豆油(上海泰坦科技股份有限公司,批号 P11085);鼠乳腺癌 4T1 细胞、人肝癌细胞 HepG2、人黑色素瘤 A875 细胞均由中国医学科学院北京协和医学院基础医学研究所细胞中心提供;RPMI 1640 培养基、DMEM 培养基、MEM 培养基、胎牛血清、青霉素和链霉素双抗(美国 Gibco 公司);96 孔无菌培养板(美国 Corning 公司);聚山梨酯 80(批号 F20150324)、油酸(批号 F20140510)购自国药集团化学试剂有限公司,丙三醇(批号 20150106)、氯仿(批号 20150202)购自北京化工厂,均为市售分析纯。

### 1.2 实验仪器

AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海

有限公司); Ultimate 3000 Series 高效液相色谱仪(戴安中国有限公司); Zetasizer-nano-zs90 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(马尔文仪器有限公司); Tecan M1000 多功能连续波长酶标仪(瑞士); MCA-15AC 细胞培养箱(日本 SANYO 公司); Purelab Classic 综合纯水仪(英国 ELGA 公司); JN3000 超高压纳米乳匀机(广州聚能生物科技有限公司); SCIOLOGEX MX-S 的旋涡混合器(北京科博赛尔科技有限公司); MM-1 微量振荡器(金坛市正基仪器有限公司)。

## 2 方法和结果

### 2.1 番荔枝素亚微乳的制备

水相由处方量 225 mg 甘油和 60 mg 聚山梨酯 80 分散在 10 mL 去离子水中组成;油相由处方量 240 mg 精制蛋黄卵磷脂、40 mg 油酸、1.5 g 注射用大豆油、15 mg 番荔枝素共溶于二氯甲烷中旋蒸除去溶剂组成;在 60 °C 下将水相与油相混合涡旋 1 min,制备初乳后,进行高压均质。

### 2.2 处方优化

**2.2.1 离心稳定常数 ( $Ke$ ) 的计算** 在一定转速下离心对乳剂稳定性的影响相当于自然静置较长时间对其产生的影响。因此,用离心-分光法测定  $Ke$  是评价乳剂稳定性常用的一种方法,其中  $Ke$  越小,制剂越稳定<sup>[5]</sup>。

取亚微乳 3.5 mL 置于 5 mL 离心管中,在 4 000 r/min 离心 4 min,精密取 35  $\mu\text{L}$  离心管底部样品置 10 mL 量瓶中,用去离子水(0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜预先滤过)稀释至 7 mL 后摇匀,定容。以去离子水为空白,用紫外-可见分光光度计在 500 nm 处测定其吸光度 ( $A$ ) 值。取未离心的亚微乳同法稀释、定容后精密测定吸光度  $A_0$ , 计算  $Ke$  值<sup>[6]</sup>。

$$Ke = |A_0 - A| / A_0 \times 100 \quad (0 < Ke < 1)$$

**2.2.2 因素和水平的选择** 预实验发现注射用大豆油的用量 ( $A$ )、混合乳化剂总量 ( $B$ ) 和混合乳化的

剂精制蛋黄卵磷脂与聚山梨酯 80 的质量比 (C) 对番荔枝素亚微乳稳定性影响较大, 因此因素和水平的选择见表 1。

表 1 因素和水平  
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A/%	B/%	C
1	10	2	9 : 1
2	15	2.5	8 : 2
3	20	3	7 : 3

2.2.3 正交实验设计 采用评价指标为  $Ke$ , 考察各因素对乳剂质量的影响, 正交设计表见表 2。

表 2 正交设计试验结果  
Table 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D (空白)	$Ke$
1	1	1	1	1	27.28
2	1	2	2	2	6.38
3	1	3	3	3	5.03
4	2	1	2	3	5.46
5	2	2	3	1	51.76
6	2	3	1	2	2.13
7	3	1	3	2	5.72
8	3	2	1	3	21.14
9	3	3	2	1	14.84
$K_1$	38.69	38.46	50.55	93.88	
$K_2$	59.35	79.28	26.68	14.23	
$K_3$	41.70	22.00	62.51	62.51	
$R$	20.66	57.28	48.28	79.65	

可知混合乳化剂总量是影响乳剂稳定性最主要的因素, 其次是混合乳化剂精制蛋黄卵磷脂与聚山梨酯 80 的质量比, 注射用大豆油的用量影响最小, 即 3 个因素的影响顺序大小为  $B > C > A$ 。最优组合是  $A_1B_3C_2$ , 即注射用大豆油用量为 10%, 混合乳化剂总量为 3%, 混合乳化剂中精制蛋黄卵磷脂与聚山梨酯 80 的质量比为 8 : 2。

2.2.4 验证试验 由于最优组合不在正交试验中, 故按最优处方制备 3 批番荔枝素亚微乳, 用以验证正交试验结果的可靠性, 见图 1、表 3。可见番荔枝素亚微乳外观均为乳白色; 粒径均匀, 粒径分布范围、SD 值均较小。因此, 最佳处方确定为: 注射用大豆油用量为 10%, 混合乳化剂总量为 3%, 混合乳化剂中精制蛋黄卵磷脂与聚山梨酯 80 的质量比为 8 : 2, 稳定剂油酸为 0.4%, 助乳化剂甘油为 2.25%, 番荔枝素为 0.1%。

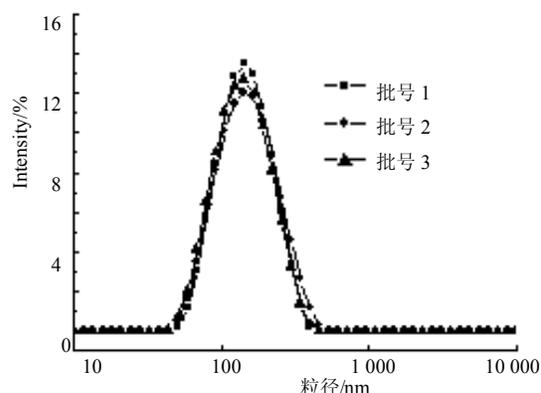


图 1 番荔枝素亚微乳的粒径分布  
Fig. 1 Size distribution of annonaceous acetogenins submicroemulsion

表 3 以最优处方制备的番荔枝素亚微乳的物理特性

Table 3 Physical properties of annonaceous acetogenins submicroemulsion based on optimal formulation

批号	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV	$Ke$
1	129.9 ± 2.166	0.167 ± 0.011	2.74	14.10
2	130.6 ± 2.352	0.173 ± 0.006	1.02	15.54
3	127.0 ± 1.222	0.161 ± 0.014	2.08	15.86

### 2.3 工艺优化

考察纳米乳匀机的运转压力和运转次数对番荔枝素亚微乳的粒径大小和分布的影响。

2.3.1 运转压力对番荔枝素亚微乳的粒径大小和分布的影响 先固定均质次数为 7 次, 选择 1 100、1 300、

1 500、1 700、1 900 bar 压力, 考察均质效果, 见图 2。当均质压力为 1 100 bar 时, 制备的乳剂粒径较大, 分布范围宽; 当均质压力为 1 300 bar 时, 乳滴的粒径变小, 分布范围变窄; 当均质压力增加到 1 500 bar 时, 乳滴的粒径变小, 分布范围变得更小;

增加压力到 1 700、1 900 bar 时, 粒径和粒度分布未见明显改善, 且分布范围变大。由此可见, 均质压力增大, 制得乳剂的粒度减小, 但随着压力的不断增加, 其粒径减小的速度减慢。因此确定均质压力为 1 500 bar。

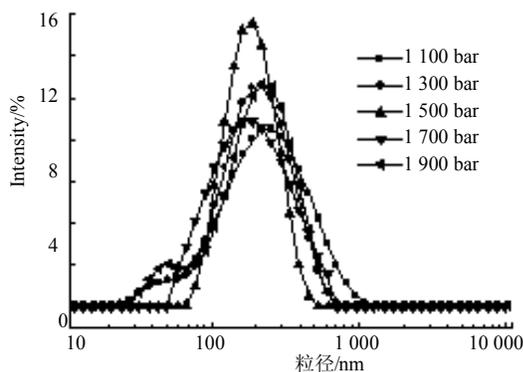


图 2 均质压力对番荔枝素亚微乳的粒径和粒径分布的影响  
Fig. 2 Effect of homogenization pressure on the size and size distribution of annonaceous acetogenins submicroemulsion

**2.3.2 运转次数对番荔枝素亚微乳的粒径大小和分布的影响** 按优化后的处方制备初乳后分成 3 份(每份 10 mL), 分别在 1 300、1 500、1 700 bar 压力下制备番荔枝素亚微乳, 并均质 1、3、5、7、9、11、13 次留样, 考察最佳均质次数, 见图 3。可以看出, 随着均质次数的增加, 粒径的变化逐渐减小, 循环 7 次以上, 粒径趋近平衡。有报道均质次数并非越多越好, 因此将均质次数定为 9 次。观察到样品均为白色乳状液体, 无油滴。

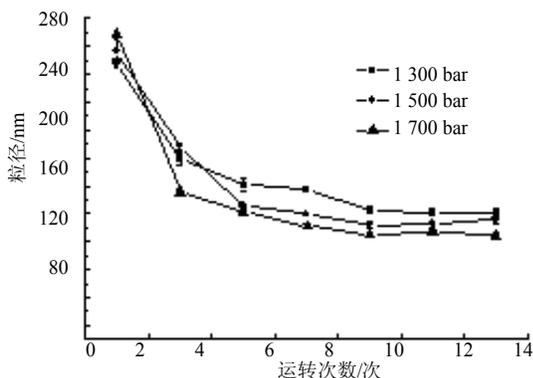


图 3 均质循环次数对番荔枝素亚微乳的粒径和粒径分布影响  
Fig. 3 Effect of cycle times on size and size distribution of annonaceous acetogenins submicroemulsion

## 2.4 理化性质考察

**2.4.1 生物介质中的稳定性考察** 参考文献报道方法配制人工胃液、人工肠液<sup>[6-7]</sup>。将番荔枝素亚微乳稀

释成一定浓度, 按体积比 1 : 4 加入到配好的人工胃液、人工肠液中混合均匀, 37 °C 孵育, 在 0、2、4、6 h 取样, 测定粒径, 见图 4。可以看出番荔枝素亚微乳在孵育的 6 h 内粒径大小稍有增加, 但基本稳定, 表明该药物在生物介质中稳定<sup>[8]</sup>。

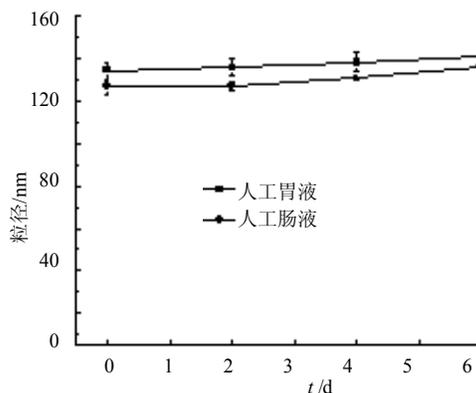


图 4 番荔枝素亚微乳在人工胃液和人工肠液中粒径变化  
Fig. 4 Change of size of annonaceous acetogenins submicroemulsion in artificial gastric juice and intestinal juice along with time

**2.4.2 透射电镜 (TEM) 观察** TEM 可直接得到一个样本的实际投影, 真实的反映了番荔枝素亚微乳的形态及其粒子大小。将番荔枝素亚微乳用去离子水稀释到番荔枝素质量浓度为 0.10 mg/mL, 取 6 μL 滴到 300 目的铜网上, 静置 5 min 后滤纸吸干, 自然干燥后, 滴加 6 μL 醋酸铀染色 90 s, 滤纸吸干多余液体, 晾干, 透射电镜下观察亚微乳粒子的形态和大小, 见图 5。可知番荔枝素亚微乳呈球形, 粒径较小, 主要在 100 nm 左右。

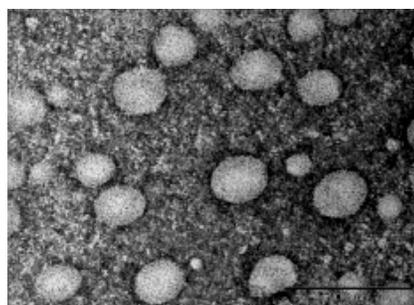


图 5 番荔枝素亚微乳 TEM 照片  
Fig. 5 Transmission electron microscope images of annonaceous acetogenins submicroemulsion

## 2.5 体外细胞毒性考察

以番荔枝素的 DMSO 溶液为对照, 采用 HepG2、4T1、A875 细胞系对番荔枝素亚微乳的体外细胞毒性

进行考察。HepG2 细胞用 MEM 培养基, 4T1 细胞用 RPMI 1640 培养基, A875 细胞用 DMEM 培养基 (均含 10% 胎牛血清和 100 U/mL 的青霉素、链霉素), 均于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养, 胰酶消化传代。当培养到对数期的细胞密度达到 90% 左右时, 用培养液将 HepG 2、4T1、A875 细胞配成单细胞悬液, 以 1 × 10<sup>4</sup>/孔接种到 96 孔板。培养 24 h 后, 弃去培养液, 每孔加 200 μL 含药培养基继续培养 (含药培养基中不含胎牛血清; 对照为不含胎牛血清的培养基)。番荔枝素纳米混悬剂和溶液质量浓度均设 0.125、0.25、0.5、0.75、1.25、2.5、5、20 μg/mL, 每个浓度 6 个复孔。孵育 24 h 后, 弃去培养基, 每孔加 5 mg/mL MTT 的 PBS 溶液 20 μL。再孵育 4 h, 弃去培养基, 每孔加 DMSO 200 μL, 振荡 10 min, 使紫色结晶物充分溶解。用酶联免疫荧光仪在 570 nm 测吸光度 (A) 值, 计算药物对细胞的抑制率。以药物浓度为横坐标、抑制率为纵坐标绘制剂量 - 效应曲线, 通过 GraphPad Prism 5.0 计算细胞抑制率为 50% 时的药物浓度, 即半数抑制浓度 (50% concentration of inhibition, IC<sub>50</sub>) [9-10]。见表 4。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / A_{\text{对照}}$$

表 4 番荔枝素溶液和亚微乳对 4T1、A875 和 HepG 2 细胞生长的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Cytotoxicities of annonaceous acetogenins solution and submicroemulsion against 4T1, A875, and HepG2 cell lines ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	IC <sub>50</sub> /(μg·mL <sup>-1</sup> )		
	4T1 细胞	A875 细胞	HepG 2 细胞
溶液	1.491 ± 0.235	1.872 ± 0.309	7.186 ± 2.664
亚微乳	3.082 ± 0.679	2.001 ± 0.394	1.762 ± 0.613

可见番荔枝素亚微乳和原药对这 3 种细胞的杀伤作用均呈现浓度相关性。番荔枝素亚微乳和溶液对 4T1、A875 细胞的 IC<sub>50</sub> 值分别为 3.082、1.491 μg/mL, 2.001、1.872 μg/mL。亚微乳的细胞毒性低于游离药物 (DMSO 溶液), 可能与药物从亚微乳中释放较慢, 而游离药物则不需要释放过程有关。对 HepG2 细胞情况则不同, 番荔枝素亚微乳和溶液的 IC<sub>50</sub> 值分别为 1.762、7.168 μg/mL, 亚微乳较溶液具有更强的体外抗肿瘤活性。因此随后的体内药效学实验也选择肝癌细胞进行进一步的研究。

## 2.6 体内抑制小鼠 H22 实体瘤

### 2.6.1 动物模型的建立<sup>[11]</sup> 将冻存的鼠源性 H22

肝癌细胞复苏后腹腔下传代。7 d 后处死 Balb/c 小鼠, 取出腹水, 以乳白色为宜; 用无菌 PBS 将细胞悬液浓度调整为 5 × 10<sup>6</sup> 个/mL, 接种于 Balb/c 小鼠右侧腋下, 0.2 mL/只, 建立小鼠 H22 实体瘤模型。

**2.6.2 番荔枝素亚微乳体内抗肿瘤作用评价** 筛选出肿瘤大小相对一致的 30 只荷瘤小鼠, 随机分为 3 组, 每组 10 只, 番荔枝素亚微乳组 1 mg/kg (按照 ACGs 的理论浓度计算); 番荔枝素油溶液组 4 mg/kg (按照 ACGs 理论浓度计算); 生理盐水组。各组 ig 给药, 每隔 1 天给药 1 次, 共 8 d。实验结束后, 脱颈椎处死小鼠, 完整剥离腋下肿瘤组织, 称定瘤质量, 计算各组抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (\text{对照组平均瘤质量} - \text{给药组平均瘤质量}) / \text{对照组平均瘤质量}$$

**2.6.3 相对体质量变化** 给药期间的相对体质量变化见图 6。可以看出, 生理盐水组呈上升趋势, 番荔枝素亚微乳、油溶液组体质量均在增加, 对荷瘤小鼠并无显著的毒副作用。

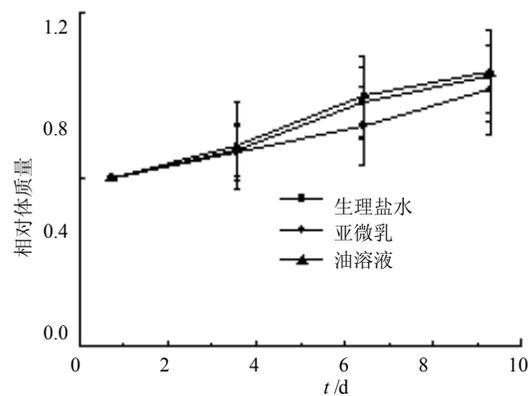


图 6 H22 荷瘤小鼠给药后体质量变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Fig. 6 Change of body weight of H22 hepatoma-bearing mice along with time ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

**2.6.4 抑瘤率影响** 在 H22 荷瘤小鼠药效学实验中各组抑瘤率见表 5。1 mg/kg 番荔枝素亚微乳和 4 mg/kg 的番荔枝素溶液抑瘤率比较接近, 分别为 65.0%、56.5%。尽管油溶液的给药剂量为亚微乳组的 4 倍, 但其抑瘤率比亚微乳稍小, 说明亚微乳是番荔枝素口服给药的良好剂型, 较传统给药方式可起到减毒增效的作用。亚微乳较油溶液显著增高的抗肿瘤疗效可能与亚微乳提高了药物的口服生物利用度有关, 同时部分亚微乳有可能通过淋巴循环入血, 而这部分经淋巴吸收的亚微乳入血后保留了其纳米结构, 可能基于 EPR 效应提高了在肿瘤组织中的分布, 从

而改善了治疗效果。对肿瘤的生长具有抑制作用,并且抑瘤作用优于番荔枝油溶液。

表5 番荔枝亚微乳和油溶液对H22荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 5 Tumor inhibition rate of annonaceous acetogenins submicroemulsion and oil solution on H22 hepatoma-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	肿瘤质量/g	抑瘤率/%
对照	—	1.002±0.359	—
亚微乳	1	0.436±0.144	65.0
油溶液	4	0.351±0.147	56.5

在药效学研究中,还发现试验结束时,油溶液组的小鼠多数出现腹部鼓胀现象,解剖后发由现肠道胀气和食物堆积现象,考虑到油溶液剂量较大(为亚微乳组的4倍),推测是大量番荔枝素作用于肠道之后引起的副反应。亚微乳组由于药物释放缓慢,且部分经由淋巴转运,加上剂量小,肠道反应不明显。

### 3 讨论

番荔枝素具有抗肿瘤、细胞毒、杀虫、抗菌和免疫抑制等多种显著的生物活性,尤以细胞毒和杀虫作用最为引人注目<sup>[12]</sup>;目前关于番荔枝素的研究中多以番荔枝素混悬剂和油溶液进行ip或po给药<sup>[13-14]</sup>,但混悬剂是难溶的固体制剂,以微粒状态分散于分散介质中,形成非均匀的液体制剂,粒径在0.5~10 μm,小者可为0.1 μm,大者可达50 μm或更大,属于热力学不稳定的粗分散体系<sup>[4]</sup>,混悬剂存在更大的物理稳定性问题;而油溶液在实验过程中出现消化不良胀气的现象。番荔枝素亚微乳克服了混悬剂和油溶液物理稳定性差、给药剂量大、胃肠道伤害大的不足,解决番荔枝素难溶于水、难于给药的问题,在一定程度上增效减毒,为番荔枝素的进一步研究提供了参考。

### 参考文献

- [1] 姚祝军,吴毓林. 番荔枝内酯—明日抗癌之星 [J]. 有机化学, 1995, 15(2): 120-132.
- [2] 李雯敏,刘文丛. 番荔枝素抗肿瘤机制研究 [J]. 吉林农业, 2011(4): 307-309.
- [3] 游洁. 番荔枝总提取物防治肝癌的作用和机制研究 [J]. 中国医药指南, 2014, 12(35): 65-66.
- [4] 崔福德,龙晓英. 药剂学 [M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 369-378.
- [5] 和素娜,王东凯,李林穗,等. 多烯紫杉醇磷脂复合物亚微乳的制备与工艺优化 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 8(1): 9-16.
- [6] 马萍,辛艳茹,杨京燕,等. 离心分光光度法测定乳剂的稳定性 [J]. 药学实践杂志, 2001, 19(1): 23-25.
- [7] 中国药典 [S]. 二部. 2010: 附录 85.
- [8] 黄财顺,李宝才,向城. 人工胃肠液模型在药物稳定性研究中的应用现状 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 10: 1836-1841.
- [9] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *Immunol Method*, 1983, 65(1-2): 55-63.
- [10] Nikhil K, Sharan S, Chakraborty A, et al. Role of isothiocyanate conjugate of pterostilbene on the inhibition of MCF-7 cell proliferation and tumor growth in Ehrlich ascitic cell induced tumor bearing mice [J]. *Exp Cell Res*, 2014, 320(2): 311-328.
- [11] 徐叔云,卞如濂. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1647.
- [12] Fang X P, Rieser M J, Gu Z M, et al. Annonaceous acetogenins: an updated review [J]. *Phytochem Anal*, 1993, 4(1): 27-48.
- [13] 章永红,韩英,夏东,等. 光叶番荔枝提取物抗肿瘤作用研究 [J]. 南京中医药大学学报: 自然科学版, 2001, 17(5): 291-293.
- [14] 陈勇,李祥,陈建伟,等. 双四氢呋喃型番荔枝内酯体内抗肿瘤作用 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 139-142.