

藁本内酯稳定性研究进展

侯效英^{1,2}, 高帆^{1,4}, 杜丽东^{1,3,4}, 王瑞琼^{1,2,3}, 吴国泰^{2,3,4*} (1. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000; 2. 陇药产业创新研究院, 兰州 730000; 3. 西北中藏药省部共建协同创新中心, 兰州 730000; 4. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 兰州 730000)

摘要: 藁本内酯(LIG)是中药当归和川芎含有的一种苯酞类化合物,具有广泛的药理活性,主要有抗炎、抗氧化、镇痛、抗肿瘤、神经保护和血管保护作用等,然而LIG稳定性差,容易受温度、光照和氧气、溶媒pH值、溶媒种类等因素的影响发生变构;此外,LIG水溶性低,生物利用度小,限制了LIG在新药成药方面的开发应用。笔者综述近年来国内外有关LIG天然来源、结构特点及结构改造、降解及转化机制、影响降解的主要因素、稳定化方法、生物活性等方面的研究进展,以期为LIG的进一步开发应用提供参考。

关键词: 藁本内酯;稳定性;结构改造;转化机制;稳定化方法

doi:10.11669/cpj.2024.24.001 中图分类号:R284 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)24-2299-07

Research Progress on the Stability of Ligustilide

HOU Xiaoying^{1,2}, GAO Fan^{1,4}, DU Lidong^{1,3,4}, WANG Ruiqiong^{1,2,3}, WU Guotai^{2,3,4*} (1. School of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Longyao Industry Innovation Research Institute, Lanzhou 730000, China; 3. Collaborative Innovation Center for Northwest Chinese and Tibetan Medicine, Lanzhou 730000, China; 4. Gansu Provincial Key Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: Ligustilide (LIG) is a phthalide compound found in *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels and *Ligusticum chuanxiong* Hort., which has a wide range of pharmacological activities in clinical practice, including anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, anti-tumor, neuroprotective, and vascular protective effects. However, LIG has poor stability and is easily affected by factors such as temperature, light, oxygen, pH value, and solvent type, leading to conformational changes. In addition, the low water solubility and low bioavailability of LIG limit its development and application in new drugs. The article reviews the research progress on natural sources, structural characteristics and structural modifications, degradation and transformation mechanisms, main degradation influencing factors, stabilization methods and bioactivity of LIG in recent years, in order to provide reference for the further development and applications of LIG.

KEY WORDS: ligustilide; stability; structural modification; conversion mechanism; stabilization method

藁本内酯(ligustilide, LIG)是当归、川芎等传统中药的主要活性成分之一,药理作用广泛,具有抗氧化^[1]、抗炎镇痛^[2]、保护神经细胞^[3]、调节血压、抗动脉粥样硬化^[4]、保护心肌损伤^[5]、治疗阿尔茨海默病^[6]、缓解骨质疏松症^[7]等多种作用。其在血液系统、心血管系统、神经系统疾病的防治中具有较大潜力,尤其近年来心脑血管病给人类健康带来的风险和威胁日趋严重,当归和川芎等补血活血类中药的开发应用颇受青睐,LIG作为防治心脑血管疾病有效候选化合物的开发潜力巨大。

稳定性是药品质量的关键属性和评价指标,若发生化学成分变构变质,可导致药效降低,甚至产生毒副作用,影响身体健康和生命安全。LIG结构中含有内酯键和多个不饱

和键,极不稳定,极易受温度、氧气、光照等因素的影响容易发生双键断裂、脱氢、环氧化等化学变化,进而影响其原有活性,导致当归、川芎等中药材、饮片及其制剂中LIG含量下降。LIG稳定性差不仅影响制剂质量及其疗效的发挥,而且这些异构化、降解及氧化的产物会产生致敏性,限制了LIG的进一步开发应用^[8]。目前,通过借助药物制剂学的手段,如 β -环糊精包合、脂质体、纳米乳、加入稳定剂(氮气、氟碳气体)等改善LIG稳定性,但仍存在一些局限性。因此,提高LIG的稳定性是近年来科研工作者亟待解决的问题,也是LIG制剂开发和推广应用的前提条件。笔者总结LIG的天然来源、结构特点及结构改造、降解及转化机制、稳定性影响因素、稳定化方法、生物活性等,为后续提高LIG药物的稳定

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(82260772);甘肃省自然科学基金项目资助(21JR11RA137)

作者简介: 侯效英,女,硕士研究生 研究方向:临床药学 * **通讯作者:** 吴国泰,男,博士,副教授 研究方向:药理学与临床药学
Tel: (0931) 5109816

性提供科学依据。

1 LIG 的天然来源

LIG 别名东当归酞内酯,主要来源于伞型科植物东当归 [*Angelica acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagaw]、川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort)、当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels] 的挥发油,约占当归挥发油和川芎挥发油的 35% 和 58%, 这些植物在欧洲、亚洲和北美洲都有广泛分布^[9-10]。

挥发油是当归、川芎主要有效组分,挥发油中 LIG 的含量通常作为评价当归和川芎药材质量的关键指标,不同产区当归、川芎中 LIG 的含量差别较大,甘肃岷县当归中 LIG 含量高达 1% 以上,四川、云南、陕西当归中 LIG 含量也有 0.5% 左右,四川都江堰川芎 LIG 含量约为 1%、部分达到 2%,比日本欧当归(含 LIG 约 0.1% ~ 0.15%)和韩国川芎(含 LIG 约 0.3%)挥发油中 LIG 含量均高出很多^[11-12]。

2 LIG 的特点及结构改造

LIG 的化学名为 3-丁烯基-4,5-二氢异苯并呋喃酮,化学分子式 $C_{12}H_{14}O_2$,相对分子质量 190.24,结构式见图 1。从结构上看,LIG 是一种含有内酯键、不饱和 $C=C$ 键和共轭双键的内酯类化合物。LIG 的内酯键易在碱性条件下水解开环,不饱和双键在遇到高温或光照时易发生异构化或分解,共轭双键受光、氧、酸、热等影响易被氧化^[13],进而发生脱氢、氧化、水解、降解等多种异构化反应,这些化学结构特征均是导致 LIG 不稳定的主要因素。

LIG 由于含有活泼的二氢苯,是一种不稳定的化合物,可以通过氧化、异构化、二聚作用等转化为其他苯并呋喃类化合物。LIG 结构中包含环外不对称双键,有顺、反 2 种异构体,当归中主要含有 (*Z*)-ligustilide,川芎中含有 (*E*)-ligustilide^[14],由于 *Z* 型结构为空间优势构象,比 *E* 型结构更稳定,因而 *Z*-LIG 在中药材中含量远远高于 *E*-LIG。

在 LIG 的分子基础上采用结构修饰的方法构建的一种无色针状晶体,称之为环丙藁本 (ligusticum cycloprolactam, LIGc),通过引入手性环丙内酰胺的稳定构象提高了 LIG 的化学稳定性^[15]。另有研究以 LIG 为母核,经过一系列改造和修饰后,得到了 LIG 衍生物,见图 1,其中 R1 基团为苯基上各个位置取代基,具体为氢、卤素、2-8 碳原子烷基、环烷基、烷氧基、氰基、羟基、胺基、芳基、杂芳基、异丙基中的一种,当在 LIG 衍生物内酰胺环上连接的基团为对三氟甲基苯胺时,其抗炎活性优于临床常用抗炎药物吲哚美辛和地塞米松,研究发现,LIG 在 *N*-位具有 4-取代苯基的化合物倾向于表现出更大的抑制靶活性的效力,且吸电子取代基对抑制活性的影响更为显著,在苯基环的 4 位被三氟甲基取代的化合物表现出最强的抑制活性^[16-17]。

3 LIG 的降解及转化机制

LIG 容易发生异构化、氧化、环加成、聚合等结构变化,产生一系列降解产物^[18-19],LIG 结构中不稳定化学键的所在

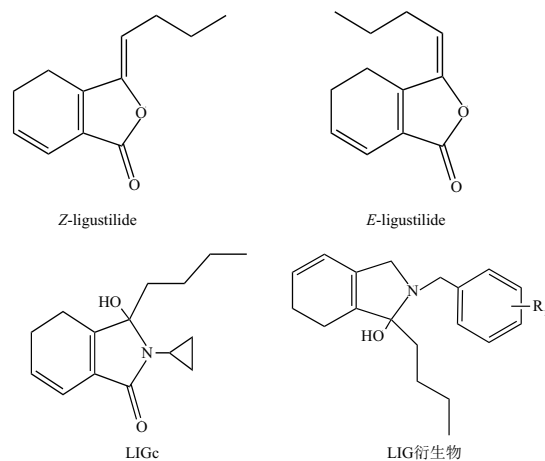


图 1 藁本内酯(LIG)及其衍生物的化学结构

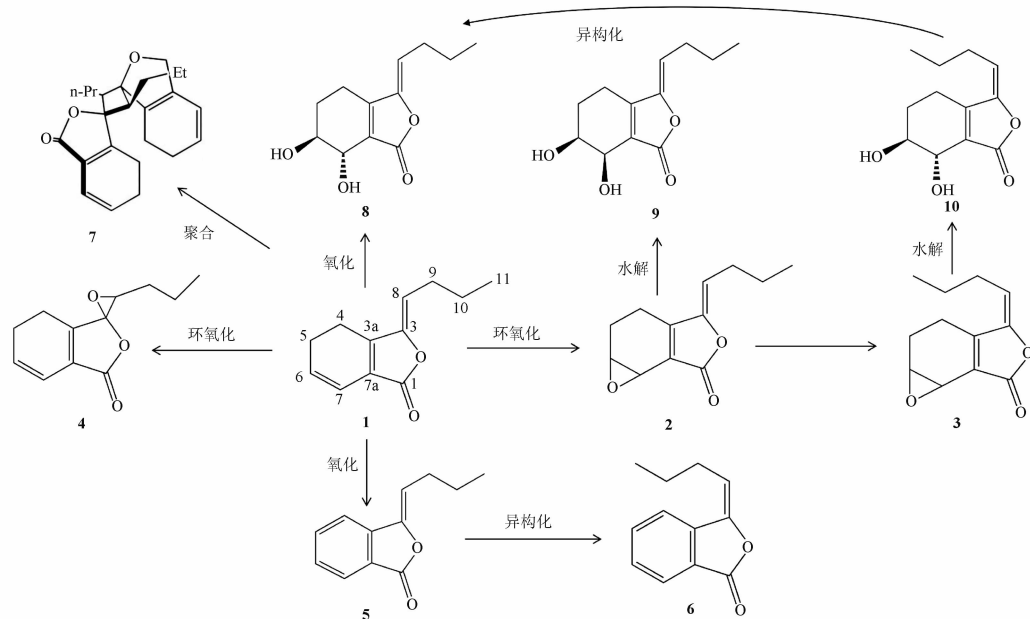
位置是不同降解途径的关键因素,共轭双键和不饱和共价键最容易发生降解反应,因此 C3 和 C8 位上的双键在光照条件下发生二聚作用而生成成为内-(*Z, Z'*)-(3.8,8.3',H-7)二藁本内酯,LIG 结构中的 6,7 位、3,8 位双键不稳定,容易发生氧化而生成 6,7-环氧藁本内酯、洋川芎内酯 I、3,8-环氧藁本内酯以及 (*Z*)-亚丁基苯酞,同时生成的 6,7-环氧藁本内酯也不稳定,会进一步水解转变为洋川芎内酯 I 和洋川芎内酯 H。LIG 氧化、水解后的产物进一步异构化后形成的化合物分别是 (*E*)-6,7-反式二羟基藁本内酯和 (*E*)-6,7 环氧藁本内酯以及 (*E*)-亚丁基苯酞,见图 2。LIG 在当归、川芎挥发油中能基本保持稳定,不容易发生在纯品状态下的异构化,这可能是由于挥发油所含异构化产物具有一定的含量,使异构化反应趋向均衡而导致^[20]。

4 影响 LIG 降解的主要因素

目前 LIG 在药物制剂中的稳定性成为新药开发的瓶颈问题,影响 LIG 稳定性的主要因素包括温度、光照、氧气、溶媒种类、溶媒 pH 值等。

4.1 温度

温度是影响 LIG 的主要因素,温度越高,LIG 的降解越快。Li 等^[20]发现 LIG 纯品在室温条件下 15 d 就降解至 41.97%,在 4 °C 冰箱冷藏的条件下,15 d 后 LIG 含量可降解至 86.67%,而在 -15 °C 冰箱中保存 90 d,LIG 含量基本没变化,可见温度对 LIG 的含量影响比较大。Tian 等^[21]研究川芎蒸馏液中 LIG 在室温、4 °C、37 °C 条件下的降解特点,分别用紫外分光光度计在 271 nm 测定第 1、15、30、60、90 天的吸收度(A),90 d 后,室温下 A 下降了 31%,4 °C 下 A 下降了 11%,37 °C 下 A 下降了 60%,结果表明,川芎蒸馏液中 LIG 在 4 °C 条件下稳定性较好。综上,发现 LIG 对温度十分敏感,环境温度越高,LIG 的降解越多,主要原因可能与 LIG 结构中含有不稳定的 $C=C$ 有关,由此可知,增加 LIG 稳定性的关键方法是在低温(4 °C 以下)或超低温(-15 °C)保存,但是保存条件的严格要求势必增加生产和流通成本。



1 - LIG; 2 - (*Z*)-6,7-环氧藜本内酯; 3 - (*E*)-6,7 环氧藜本内酯; 4 - 3,8-环氧藜本内酯; 5 - 3,8-环氧藜本内酯; 6 - (*E*)-亚丁基苯酞; 7 - 内-(*Z,Z'*)-(3,8,8,3',H-7)二藜本内酯; 8 - 洋川芎内酯 I; 9 - 洋川芎内酯 D; 10 - (*E*)-6,7-反式二羟基藜本内酯。

图2 LIG 的降解途径

4.2 光照和氧气

光照和氧气也是 LIG 降解的主要加速因素,光照时间越长,LIG 的降解越多,氧气存在的情况下会加速 LIG 的氧化变构。Zhu 等^[22]分别在避光冷藏、室温避光、室温不避光 3 种条件下考察川芎挥发油中 LIG 的含量,在避光冷藏条件下,LIG 含量变化小,而在室温避光和室温不避光的条件下 LIG 含量下降明显,由此说明光照可以加速降解过程,因此 LIG 及其制剂需要冷藏且避光保存,对包装材料的要求更加苛刻,可能会增加生产成本。

Li 等^[23]考察在常温下空气对 LIG 稳定性的影响,分别在密闭避光、密闭不避光、不密闭但避光、不密闭不避光的条件下测定 LIG 的含量,结果表明,密闭避光条件下 LIG 的异构化速度最慢,30 h 后 LIG 的含量仍有 33.45%,与其他条件相比 LIG 存量最大。由此说明光照和氧气确实会加速 LIG 的异构化,在低温储存的条件下,避光、密闭保存有助于 LIG 的稳定,这种稳定化措施长期(30 h 以上)也不能保证 LIG 的含量稳定,探索加入稳定剂或改变 LIG 的介质环境也许是新的突破口。

4.3 溶媒种类

不同溶媒对 LIG 的稳定性具有明确的影响,筛选对 LIG 降解具有抑制作用的溶媒,对 LIG 的稳定保存和制剂开发具有重要意义。

Zhou 等^[24]发现常温下 LIG 在氯仿中保存 25 d,其含量从 97.98% 降到 96.36%;相同条件下在环己烷中 LIG 含量从 97.98% 降至 91.24%,说明 LIG 在氯仿、环己烷中能够保持较好的稳定性。Wang 等^[25]为了筛选出较好的 LIG 稳定剂,分别把未加稳定剂、加氮气以及加氟碳气体的 LIG 熔封在安剖瓶中,置于 -20 °C 冰箱和 -4 °C 冰箱,分别在室温见光,室

温避光的环境中观察,加入氟碳气体的 LIG 在 4 种环境中都稳定,含量基本没有下降。另有研究发现^[26],向 LIG 标准溶液中分别加 2% 的氯化亚铁、氯化钾、氧化铝、硫酸镁、氯化钠、硫酸铜、硫酸亚铁、氯化锌等常见金属离子,各溶媒中 LIG 的含量略有下降,48 h 后氯化亚铁中 LIG 的含量为 82.7%,说明常见金属离子对 LIG 具有一定的稳定作用。但是,有机溶剂氯仿、环己烷在 LIG 溶液体系中不易除去,污染 LIG 从而会影响 LIG 的使用,金属离子在 LIG 体系中增加重金属毒性风险,在实际生产应用中不宜推广,因此添加剂的使用并不是增加 LIG 稳定性的科学合理方法。

4.4 溶媒 pH 值

溶媒 pH 值反映环境的酸碱性,LIG 结构中含有内酯环,在不同 pH 环境中容易被 H⁺ 或 OH⁻ 催化水解,相对而言,环境 pH 越低,LIG 稳定性越好。Tian 等^[21]发现川芎蒸馏液在 pH 5 左右时,LIG 较稳定,随着保存时间的增加,pH 值逐渐下降,因此川芎蒸馏液可能会分解或异构化为酸性物质,当调回川芎蒸馏液 pH 值时,待测物的吸收度不能回到初始状态,则说明 LIG 与酸碱发生的降解反应是不可逆的。另有研究发现^[27-28],使 LIG 最稳定的 pH 值为 5.8,如果 pH 高于 8,LIG 则会加速水解,其原因是 LIG 的内酯结构在碱性溶液中更容易发生内酯键断裂,特定的酸或碱会加速 LIG 的降解。由此推断在 LIG 原料储存时可以通过调节 pH 值实现 LIG 的相对稳定,但是在制剂生产中 pH 的调剂受到制剂工艺和给药依存性的限制,并不是可行的稳定性方法。

4.5 其他因素

在 LIG 中加入抗氧化剂例如 Na₂S₂O₅、NaHSO₃、Vc 等也能影响其稳定性,刚添加 Na₂S₂O₅ 和 NaHSO₃ 后,LIG 含量从

700 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 分别降至 98.99 和 208.73 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 且 HPLC 图上出现了 Z-藁本内酯降解产物的新峰,其结构不明确,表明 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 和 NaHSO_3 都与 Z-藁本内酯反应生成新的化合物;然而当添加 0.2% Vc 时,24 h 后 80 $^\circ\text{C}$ 下只有 12.69% 的 LIG 降解,说明 Vc 可以有效地保持 LIG 的稳定性^[29]。另有研究^[30]为寻找 LIG 在保存期间的稳定性,分别在室温、光照和未密封的安瓿中保存 3 个月和 -10 $^\circ\text{C}$ 条件下在充满氩气的棕色安瓿中密封 3 个月,结果表明,纯化的 LIG 应保存在约 -10 $^\circ\text{C}$ 的充满氩气的棕色安瓿中可以储存更长时间,防止氧化。

综上,为了减少 LIG 异构化与分解,低温避光保存、调节 pH 值、加入抗氧化剂等均为 LIG 增加稳定性的有效方法。

5 LIG 的稳定化方法

LIG 的水溶性低、稳定性差等特点使其在开发制剂时存在难度,极大地限制了其在临床上的应用,因此,为提高 LIG 稳定性问题,研究人员用现代药剂学方法进行了 LIG 的稳定性提升措施,包括包合技术、乳化技术、纳米技术和脂质体技术。

5.1 环糊精包合

β -环糊精是由 7 个葡萄糖分子组成的环状结构化合物,能将一定大小的疏水性客体分子包合形成一种特殊的包合物,因此能与水难溶性化合物形成包合物,增加水中溶解度,同时避免与光、热、水、氧的直接接触,进而提高其稳定性^[31]。

Lu 等^[32]使用捏合法制备 LIG 与羟丙基- β -环糊精 (HP- β -CD) 包合物,LIG 的稳定性得到有效提高。Sun 等^[33]用正交实验和饱和水溶液法筛选出超临界 CO_2 萃取当归精油- β -环糊精包合物的包合条件,并对其稳定性进行考察,当包合温度为 50 $^\circ\text{C}$ 时以 8 倍环糊精的量包合当归挥发油并搅拌 2 h,当归挥发油有较高的包合率和油利用率,而且在 70 $^\circ\text{C}$ 的恒温箱内干燥 7 d,该包合物中 LIG 的含量变化不大,相对稳定,表明采用正交实验筛选包合工艺条件是合理的,包合率较高且 LIG 热稳定性良好。Yang 等^[34]用单相法制备川芎油 HP- β -CD 包合物并对包合物的溶解度和稳定性进行考察,发现包合物在 60 $^\circ\text{C}$ 条件下 10 d 的稳定性良好,说明 HP- β -CD 包合物的稳定性有效改善,包合物中 LIG 平衡常数 K 为 164.42,且溶解度显著提高。由此发现 β -环糊精包合技术是实现 LIG 稳定化的有效方法之一,也是脂溶性 LIG 增加溶解性的有效方法。

5.2 制备微乳

微乳是由水、油、乳化剂和助乳化剂自发形成的一种黏度低、透明或半透明的热力学稳定系统,具有良好的热力学稳定体系,能够较好地解决难溶性药物溶解度问题并增加生物利用度^[35-36]。研究发现^[27],当归、川芎挥发油微乳分别于室温和 40 $^\circ\text{C}$ 下保存 6 个月后,室温条件下 LIG 含量下降至 92.06%,40 $^\circ\text{C}$ 下 LIG 含量下降至 89.41%,加速度实验和室温留样测定当归、川芎挥发油微乳的稳定性,发现当归、川芎挥发油微乳中 LIG 的含量下降缓慢,可以看出当归、川芎挥发油微乳有良好的理化稳定性。

5.3 制备纳米乳

纳米乳是一种平均粒径小于 100 nm 的外观透明或者半透明的均相分散体系,能够提高脂溶性药物溶解度和稳定性^[37]。Ma 等^[38]将 LIG 纳米乳放在避光玻璃瓶中,在 25 $^\circ\text{C}$ 、75% 相对湿度下放置 3 个月,LIG 纳米乳制剂相对稳定;与 LIG 原料相比,研究 LIG 纳米乳制剂在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液和 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 中的 LIG 溶出曲线,结果显示在 20 min 内完全溶出,同时其 c_{pmax} 和 $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ 显著增加,说明 LIG 纳米乳制剂的稳定性良好,是值得推广的 LIG 制剂类型。

5.4 制备自微乳

自微乳化释药系统是由油相、乳化剂和助乳化剂组成的固态或液态混合体系,载药体系可增加难溶性药物的溶解度,避免首关效应,从而有效改善药物的生物利用度^[39]。Zhao 等^[40]分别在 60、25、4、-20 $^\circ\text{C}$ 条件下存储,分别测定 LIG 纯品、当归挥发油和当归自乳化制剂中的 LIG 含量,在 60 $^\circ\text{C}$ 条件下,LIG 纯品或者在挥发油中均不稳定,在低温条件下 LIG 在挥发油中相对稳定,LIG 纯品只有在 -20 $^\circ\text{C}$ 条件下稳定且保持时间短,当归自乳化制剂无论在高温还是低温条件下存储,都有较好的稳定性,也是值得推广的 LIG 制剂类型。

5.5 制备脂质体

脂质体是一种将药物封装于类脂质层的双分子囊泡,其囊材主要是磷脂,能增加药物的溶解度,改善药物的稳定性、提高生物利用度等特点^[41-42]。Li 等^[43]通过正交实验法和乙醇注入法优选 LIG 脂质体最佳制备工艺,在制备温度为 35 $^\circ\text{C}$ 和缓冲液 pH 7.5 的条件下,卵磷脂的用量是 LIG 的 10 倍,同时卵磷脂与胆固醇之比为 2:1,从而得到了 LIG 脂质体的最佳制备工艺,该工艺具有很好的可行性,LIG 脂质体的稳定性较好。Yao 等^[44]采用薄膜分散法并进行单因素考察筛选最优当归挥发油脂体制备工艺,添加卵磷脂 80 mg、胆固醇 40 mg,超声时间 60 min 后,再加入当归挥发油 0.1 mL 即得到包封率较高的当归挥发油脂体。Zheng 等^[45]使用薄膜分散法制备川芎挥发油脂体,并结合正交设计优化处方和制备工艺,研究发现最理想的处方为卵磷脂与川芎挥发油用量相等,卵磷脂是胆固醇用量的 3 倍,缓冲溶液 pH 为 6.8,在该条件下制备的川芎挥发油脂体处方合理,该工艺可行且包封率较高,是值得放大实验和推广应用的 LIG 新型制剂。

目前上述稳定化方法并未完全满足 LIG 在药物、保健食品以及临床等方面的应用,如何有效提高 LIG 生物利用度仍是亟待解决的问题。

6 LIG 的主要生物活性

LIG 来源于活血化瘀类中药当归和川芎,能通利血脉、改善血行、消散瘀血,在抗炎镇痛、改善高脂血症、血液黏稠、动脉粥样硬化、高血压等方面具有潜在优势,其生物活性非常广泛。

6.1 抗炎镇痛

Lin 等^[46]研究 LIG 的镇痛和抗炎药效,发现 LIG 既可以

抑制急、慢性炎症,同时还抑制化学刺激引起的小鼠扭体反应及热板致痛反应,但是与哌替啶相比,仍有一定的差距。此外,LIG 还能有效缓解实验性非细菌性前列腺炎^[47]。Zhu 等^[48]研究证明了静脉注射 LIG 可预防脂多糖引起的机械异常性疼痛,其主要作用机制是通过抑制小胶质细胞活化和促炎细胞因子的产生来减轻炎症疼痛,据此,LIG 在缓解疼痛和抑制炎症方面具有一定的开发前景。

6.2 抗动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种累及大中动脉的慢性常见病,表现为炎症、氧化应激、血管内皮细胞活化、血管平滑肌细胞(VSMCs)增殖或迁移等^[49]。Wang 等^[50]研究表明 LIG 可抑制 TNF- α 激活核因子 κ B 受体(NF- κ B),有效阻止了 NF- κ B 的激活和释放,减少内皮细胞细胞间黏附分子-1 和血管细胞黏附分子-1 的表达,发挥其动脉血管内皮保护功能。此外,自噬可能成为动脉粥样硬化治疗的潜在靶点,血管平滑肌细胞去分化表现为收缩蛋白减少,金属蛋白酶和细胞外基质蛋白增加,迁移和增殖加速^[51],Xie 等^[52]研究发现,10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LIG 对 Ang II 诱导的 VSMCs 抑制迁移的效果最好,且浓度范围呈剂量依赖性,浓度越高其抑制细胞迁移速度越好。

6.3 抗癌

LIG 对包括肺、膀胱、卵巢、口腔等在内的多种器官癌细胞群均有不同程度抑制及抗肿瘤作用。LIG 在许多癌细胞中主要作为抗增殖剂与凋亡促进剂。Yin 等^[53]研究证明了 LIG 可以通过抑制细胞增殖,调节线粒体以及介导 NF- κ B1 途径促进膀胱癌细胞凋亡。研究发现 LIG 以剂量依赖性方式影响卵巢癌细胞的存活,通过线粒体和其他来源的氧化应激促进细胞凋亡,调节 NRF2 表观遗传,从而导致癌细胞死亡^[54]。Hsu 等^[55]研究证明了 LIG 能够抑制通过激活缺氧口腔癌细胞系中的 ER 应激信号传导诱导 c-Myc 依赖性细胞凋亡;此外,还发现了 LIG 能够增加放射治疗后口腔癌细胞中 γ -H2AX 的表达,并增加 DNA 损伤的发生,提示其具有作为辐射增敏剂的潜力。LIG 诱导了非小细胞肺癌中 PTEN 的上调,PTEN 的上调抑制了 AKT 的磷酸化,从而诱导肺癌细胞凋亡增加,抑制了糖酵解代谢,其主要机制是通过 PTEN/AKT 信号通路发挥作用的^[56]。

6.4 神经保护

LIG 已证实对神经退行性疾病如阿尔茨海默病、缺血性脑卒中及其他神经系统疾病等均表现出较好的治疗作用,主要是通过减轻氧化应激损伤、改善线粒体功能,抑制神经细胞凋亡、调节内质网应激及自噬,抑制神经炎症等保护神经^[57]。Wu 等^[58]体内研究表明 LIG 在减轻脑梗体积、神经损伤和海马神经元损伤方面具有神经保护作用,通过抑制细胞内活性氧以及钙内流从而保护海马神经元免受氧糖剥夺/再灌注诱导的损伤。Wang 等^[59]研究发现 LIG 抑制低灌注大鼠皮层区神经元的凋亡和调节 MAP-2 的表达从而对长期低灌注导致大鼠大脑皮质神经损伤起神经保护作用。有研究^[60]表明通过给大鼠注射脂多糖引起神经炎症,预先给予

LIG 能够显著抑制神经炎症的反应,且量效关系呈现出一定的正相关性。

6.5 骨保护作用

近年来,有大量研究表明 LIG 在骨保护作用方面显示出巨大潜力,如骨关节炎、骨质疏松以及股骨头坏死等。Cui 等^[61]研究 LIG 对 RAW264.7 向破骨细胞分化的影响,发现 LIG 能抑制 NF- κ B 活化因子配体诱导的破骨细胞分化,其机制可能是促进 GPER 表达,减少 RANK,影响下游转录因子 NFATc1 的表达及骨吸收相关酶的活性,从而抑制破骨细胞分化和骨吸收功能。LIG 抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞炎症是通过 PI3K/AKT 途径减少人骨关节炎软骨细胞中聚集蛋白聚糖和 II 型胶原的降解,从而达到软骨细胞的保护作用^[62]。Wang 等^[63]研究表明,LIG 通过抑制 NF- κ B/细胞外调节蛋白激酶(ERK)/p38/免疫受体酪氨酸基序等信号通路的激活,进而抑制破骨细胞的形成和活性,这一结果表明,LIG 可能成为一种潜在的防治骨吸收异常疾病的药物。

7 总结与展望

LIG 是苯醌类化合物,具有抗炎镇痛、抗动脉粥样硬化、抗癌、神经保护及骨保护作用,具有广泛的临床应用前景。总结发现,氧化、水解和光降解是 LIG 的主要降解途径,可以通过低温、避光保存、添加适量的 Vc、使用共溶剂、调节 pH 值至合适范围等方法通过改变 LIG 储存条件抑制其降解,增加 LIG 的相对稳定性,但是这些改变环境条件的技术在短期内用于 LIG 原料的稳定化,具有一定的价值,并不是 LIG 制剂稳定和高质量保证的理想方法,为此通过现代制剂新技术的应用,在 LIG 原料可靠的基础上,采用纳米制剂技术、自乳化技术、环糊精包合物技术、脂质体均可以改善 LIG 制剂的稳定性,还能增加溶解度以及生物利用度,是未来 LIG 制剂开发和有效高值化利用的主要方向。

相对而言, β -环糊精包合制剂的口服生物利用度偏低,而且载量通常在 9%~14% 之间,这意味着高药物浓度时,可能需要使用更多的包合物才能达到治疗效果,同时,制备条件会更为复杂,需要精确控制温度、pH 值、搅拌速度等因素。从而增加了制剂的复杂性和成本。另外,环糊精本身具有一定的肾毒性,尤其是在长期或大量使用时,可能会对患者的肾脏造成损害,因此限制了其在 LIG 制剂中的使用。脂质体作为药物载体,虽然具有靶向性、缓释性、长效性、细胞亲和性和组织相容性等优点,但纳米脂质体的制备过程中需要使用一些特殊的辅料和设备,成本都相对较高;另外,脂质体的化学性质不够稳定,制备及贮存困难,药物包裹率不高且易发生渗漏而失去靶向性;此外,脂质体在体外环境下容易受到环境因素的影响,如温度、pH 值等,导致 LIG 泄漏或变质,而且贮存条件苛刻,如低温、避光等,脂质体的放大生产可能面临一些挑战,如设备、工艺等方面的限制,导致生产效率和产品质量波动。LIG 纳米乳以及自乳化制剂需要添加大量表面活性剂,表面活性剂用量较大时均有一定毒性,对 LIG

制剂安全性带来了一定的挑战。

因此,在LIG新型制剂设计和研发方面,还有诸多亟待解决的理论和技术问题。可以尝试在制剂辅料的研发和应用方面加大投入,比如用新型制剂辅料改性乳糖(如无水 α -乳糖)、天然或合成的高分子材料(聚合物纳米粒、无机纳米粒等)构建新型LIG药物传递系统,提高LIG制剂的稳定性和有效性。此外,还可以尝试微囊或微球技术、聚合物胶束技术、热熔挤出技术、3D打印技术、LIG衍生物合成技术等提高LIG的生物利用度、增强靶向性、改善溶解性、延长药物作用时间等。然而,新技术的制备成本较高、化学性质不稳定、体外稳定性差等问题也是需要逐步攻克的技术壁垒。

REFERENCES

- [1] KOO H J, LEE S R, PARK Y, *et al.* Inhibitory effects of ethanol extract from *Angelica tenuissimaroot* on oxidative stress and melanogenesis[J]. *Korean J Plant Res*, 2018, 31(4): 312-321.
- [2] CHEN Z H, WU G T, SUN M, *et al.* An overview of research on ligustilide in *Angelica sinensis* [J]. *J Gansu Univ Chin Med*(甘肃中医药大学学报), 2018, 35(2): 102-105.
- [3] WU X M, QIAN Z M, ZHU L, *et al.* Neuroprotective effect of ligustilide against ischaemia-reperfusion injury via up-regulation of erythropoietin down-regulation of RTP801 [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(2): 332-343.
- [4] LEI W, DWNG Y F, HU X Y, *et al.* Phthalides, senkyunolide A and ligustilide, show immunomodulatory effect in improving atherosclerosis, through inhibiting AP-1 and NF- κ B expression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109074.
- [5] CAO Y, DONG Z, YANG D, *et al.* Alleviation of glucolipotoxicity-incurred cardiomyocyte dysfunction by Z-ligustilide involves in the suppression of oxidative insult, inflammation and fibrosis[J]. *Chem Phys Lipids*, 2021, 241: 105138.
- [6] ZHANG Q, ZHANG X, YANG B, *et al.* Ligustilide-loaded liposome ameliorates mitochondrial impairments and improves cognitive function via the PKA/AKAP1 signaling pathway in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(3): e14460.
- [7] YANG F, LIN Z W, HUANG T Y, *et al.* Ligustilide, a major bioactive component of *Angelica sinensis*, promotes bone formation via the GPR30/EGFR pathway [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6991.
- [8] NIU T H, WU G T, LIU W Z, *et al.* Overview of research on the stability of *Angelica sinensis* volatile oil [J]. *J Gansu Univ Chin Med*(甘肃中医药大学学报), 2016, 33(3):93-96.
- [9] TAKANA I, YASUDAI, TAKAHASHI N, *et al.* Analysis of essential oils in various species of angelicaroot by capillary gas chromatography[J]. *Annu Rep Tokyo-to Lab Med Sci*, 1990, 9(41): 62-69.
- [10] BOHRMANNH, STAHL E, MITSUHASHI H. Constituents of umbelliferous plants XⅢ chromatographic studies on the constituents of *Cnidium officinale*[J]. *Chem Pharm Bull*, 1967, 15(10): 1606-1608.
- [11] ZHAO K J, DONG T T, TU P F, *et al.* Molecular genetics and chemical assessment of radix *Angelica* (*Danggui*) in China[J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(9): 2576-2583.
- [12] WANG C Y. Component study of Chuanxiong and medicinal materials in a prescription [D]. Chengdu: Sichuan University, 2003.
- [13] LIN L Z, HE X G, LIAN L Z, *et al.* Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric study of the phthalides of *Angelica sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 810(1-2): 71-79.
- [14] XU M, YANG Y F. Preparation and related research on ligustilide by supercritical fluid extraction combined with chromatography [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2007, 29(11): 1671-1673.
- [15] ZHANG Y, ZHANG Y, HAN Y, *et al.* Pharmacokinetics, tissue distribution, and safety evaluation of a ligustilide derivative (LIGc)[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 182: 113140.
- [16] LIU J, CHEN Q X, WU W F, *et al.* Novel ligustilide derivatives target quorum sensing system LasR/LasB and relieve inflammatory response against *Pseudomonas aeruginosa* infection [J]. *Eur J Med Chem*, 2024, 263:115972.
- [17] Jinan Univ. A derivative of ligustilide and its preparation method and application;CN202310019255. 1[P]. 2023-06-23.
- [18] ZUO A H, CHENG M C, ZHUO R J, *et al.* Structure elucidation of degradation products of Z-ligustilide by UPLC-QTOF-MS and NMR spectroscopy [J]. *Acta Pharm Sin*(药科学报), 2013, 48(6): 911-916.
- [19] DURIC K, LIU Y, CHEN S N, *et al.* Studying mass balance and the stability of (Z)-ligustilide from *Angelica sinensis* helps to bridge a botanical instability-bioactivity chasm [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(9): 2400-2408.
- [20] LI G S, MA C J, LI X Y, *et al.* Studies on the stability of ligustilide and the analysis of its isomerized products by GC-MS[J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(6): 7-9.
- [21] TIAN T Q, WANG X X, GAO L H. On the stability of volatile oil of *Rhizoma Chuanxiong*[J]. *J Shanghai Tradit Chin Med*(上海中医药杂志), 2003, 37(7): 49-52.
- [22] ZHU L, PENG G P, LI C Y, *et al.* Investigation of stability of lactones in volatile oil from *Chuanxiong Rhizoma*[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(20): 14-17.
- [23] LI H, WANG Y T. Influencing factor of the stability of ligustilide and means of stabilization [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med* (江西中医学院学报), 2003, 15(1): 56-57.
- [24] ZHOU C X, LI X H. Studies on the stability of ligustilide with solvent effect [J]. *Acta Pharm Sin*(药科学报), 2001, 36(10): 793-795.
- [25] WANG C Y, YIN J. Development and stability investigation of ligustilide stabilizers [J]. *J Chin Pharm*(中国药房), 2012, 23(35): 3294-3296.
- [26] WANG C. Pharmaceutical studies on ligustilide [D]. Hongkong: University of Hong Kong Polytechnic, 2008.
- [27] FENG L L. Study and *in vivo* evaluation of intravenous administration microemulsions of volatile oils from *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2007.
- [28] XIE Q, ZHANG L, XIE L, *et al.* Z-ligustilide; a review of its pharmacokinetics and pharmacology [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(8): 1966-1991.
- [29] YI T, ZHANG H, XIE J, *et al.* A new procedure for the preparative separation and isolation of Z-ligustilide from the roots of *Angelica sinensis* [J]. *J Sep Sci*, 2007, 30(12): 1973-1978.
- [30] CUI F, FENG L, HU J. Factors affecting stability of Z-ligustilide in the volatile oil of radix *Angelicae sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* and its stability prediction [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006, 32(6): 747-755.
- [31] LI N, LIU D W, ZHAO H M, *et al.* β -Cyclodextrin inclusion process for volatile oils of Siwei Tumuxiang Powder [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2020, 42(3): 558-563.

- [32] LU Y, LIU S, ZHAO Y, *et al.* Complexation of Z-ligustilide with hydroxypropyl- β -cyclodextrin to improve stability and oral bioavailability [J]. *Acta Pharm*, 2014, 64(2): 211-222.
- [33] SUN W, ZHU X C, WAN X, *et al.* Study on β -cyclodextrin inclusion process of *Angelica sinensis* essential oil by supercritical fluid extraction [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2007, 13(9): 17-19.
- [34] YANG Y T, LIU Y H, LIU Y H, *et al.* Preparation and property study of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex of Chuanxiong Rhizoma volatile oil [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2021, 33(5): 734-742.
- [35] YAN Q, XUE Y Y, LI F Q, *et al.* Preparation and *in vitro* evaluation of a novel ionic liquid microemulsion of glycyrrhizic acid [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2023, 54(1): 62-71.
- [36] CHEN Y Y, MA R, BU X Y, *et al.* Preparation and determination of paclitaxel-coix seed oil microemulsion based on the unity of medicine and adjuvant [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2023, 40(8): 1064-1069.
- [37] WANG S B, CHEN Y, DING Y, *et al.* Preparation of paeonol nanoemulsion and investigation of vascular endothelial cells uptake [J]. *J Chin Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2022, 53(6): 690-697.
- [38] MA Z, BAI L. Anti-inflammatory effects of Z-ligustilide nanoemulsion [J]. *Inflammation*, 2013, 36(2): 294-299.
- [39] ZHONG L, LI X F, LIAO Y M, *et al.* Preparation and quality evaluation of licorice flavonoids self-microemulsifying drug delivery system [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2019, 50(13): 3044-3051.
- [40] ZHAO Y, HE X Q, XI J, *et al.* Isolation, purification and stability evaluation of Z-ligustilide from the essential oil of *Radix Angelicae Sinensis* [J]. *West Chin J Pharm Sci*(华西药理学杂志), 2008, 23(5): 533-535.
- [41] YU R, YANG P, CUI X G, *et al.* Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of phloretin liposomes [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2023, 45(10): 3173-3179.
- [42] ZHAO Q Q, WANG Y H, XIAO Z Y, *et al.* Preparation and evaluation of *in vitro* antitumor activity of curcumin and piperine co-loaded liposomes [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2023, 54(2): 230-236.
- [43] LI Z H, LI P, ZHU X S, *et al.* Research on preparation technology of ligustilide liposomes [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2010, 41(4): 564-568.
- [44] YAO Z X, NI J M, QIAN S, *et al.* Research on preparation technology of volatile oil of *Angelica sinensis* liposomes [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2007, 29(1): 54-57.
- [45] ZHENG F, LI P, LI Z H, *et al.* Research on preparation technology of volatile oil of *Ligusticum chuanxiong* Hort. liposomes [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*(中医药导报), 2009, 15(12): 69-71.
- [46] LIN Q, ZHAO A G, CHEN J N, *et al.* Anti-inflammatory and analgesic effects of ligustilide [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(11): 165-168.
- [47] YANG J, YUAN B, YAN H, *et al.* Research on the effect of ligustilide in *Angelica naphtha* on analgesic action of experimental nonbacterial prostatitis [J]. *J Emerg Syndromes Tradit Chin Med*(中国中医急症), 2014, 24(8): 1425-1427.
- [48] ZHU M D, ZHAO L X, WANG X T, *et al.* Ligustilide inhibits microglia-mediated proinflammatory cytokines production and inflammatory pain [J]. *Brain Res Bull*, 2014, 109: 54-60.
- [49] ZHANG J, SHAO X X, LIU Q Z, *et al.* Research progress of *Alisma orientale-atractylodes macrocephala* herb pair and its active ingredients in prevention and treatment of atherosclerosis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2024, 55(16): 5735-5746.
- [50] WANG Y C, HUANG Y, WANG Y, *et al.* Effect of ligustilide on expression of miR-122 in injured human umbilical vein endothelial cells induced by angiotensin II [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2013, 44(9): 1157-1161.
- [51] GARCIA-MIGUEL M, RIQUELME J A, NORAMBUENA-SOTO I, *et al.* Autophagy mediates tumor necrosis factor- α -induced phenotype switching in vascular smooth muscle A7r5 cell line [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197210.
- [52] XIE Z, ZHANG W, LUO S H, *et al.* Effect of ligustilide on A7r5 cell migration induced by Ang II [J]. *J Guangdong Pharm Univ*(广东药科大学学报), 2015, 31(6): 811-815.
- [53] YIN L, YING L, GUO R, *et al.* Ligustilide induces apoptosis and reduces proliferation in human bladder cancer cells by NF κ B1 and mitochondria pathway [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2023, 101(6): 1252-1261.
- [54] LANG F, QU J, YIN H, *et al.* Apoptotic cell death induced by Z-Ligustilide in human ovarian cancer cells and role of NRF2 [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 121: 631-638.
- [55] HSU R J, PENG K Y, HSU W L, *et al.* Z-ligustilide induces c-Myc-dependent apoptosis via activation of ER-stress signaling in hypoxic oral cancer cells [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 824043.
- [56] JIANG X, ZHAO W, ZHU F, *et al.* Ligustilide inhibits the proliferation of non-small cell lung cancer via glycolytic metabolism [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 410: 115336.
- [57] LI X X, TANG P, ZHANG Y, *et al.* Research progress on mechanisms of ligustilide in treatment of nervous system diseases [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2024, 49(9): 2290-2298.
- [58] WU Q, MAO Z, LIU J, *et al.* Ligustilide attenuates ischemia reperfusion-induced hippocampal neuronal apoptosis via activating the PI3K/Akt pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 543756.
- [59] WANG C N, FENG Z B, PENG B, *et al.* Neuron protective effects of ligustilide on cortex region of cerebral hypoperfusion rats [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*(第二军医大学学报), 2016, 37(2): 251-255.
- [60] SHI M Q, KUANG X, LIU X J, *et al.* Z-Ligustilide inhibits LPS-induced neuroinflammation via PPAR γ -dependent suppression of TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2017, 29(3): 387-392.
- [61] CUI J, LI M Y, LIU Y T, *et al.* Ligustilide inhibits RANKL-induced osteoclast differentiation in RAW264.7 cells and its mechanism related by GPER [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*(南京中医药大学学报), 2021, 37(4): 514-520.
- [62] LI X, WU D, HU Z, *et al.* The protective effect of ligustilide in osteoarthritis: an *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(6): 2583-2595.
- [63] WANG D, LI J, FENG W, *et al.* Ligustilide suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and bone resorption via inhibition of RANK expression [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(11): 18667-18677.

(收稿日期:2024-04-01)