姜黄素口服纳米乳的制备及其在原位结直肠癌中的应用

李婧伊，王　杰，王　瑞*
（上海中医药大学中药学院，上海 201203）

摘要：采用纳米乳化技术改善难溶性中药姜黄素（**1**）的溶解性及口服吸收行为，实现原位结直肠癌的高效治疗。使用高能剪切法制备了 **1** 纳米乳，粒径为（98.79±1.08）nm，透射电镜观测结果显示其呈圆球状。经体外模拟消化后，仍有（71.03±2.93）%的 **1** 溶于水相中。进一步的离体肠吸收试验和药动学试验结果显示，纳米乳可促进 **1** 的肠道吸收，主要吸收部位为十二指肠，且呈现吸收快、消除慢的药代动力学特征，口服相对生物利用度为 313.50%。在原位结直肠癌裸鼠模型中，**1** 纳米乳口服后可有效抑制结直肠癌的肿瘤生长，剥离所得的肿瘤组织质量约为磷酸盐缓冲液处理组的 23.91%，说明 **1** 纳米乳在原位结直肠癌方面具有良好的治疗前景。

关键词：姜黄素；纳米乳；口服吸收；生物利用度；结直肠癌
中图分类号：R979.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)04-0554-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.04.011

Preparation of Curcumin Oral Nanoemulsion and Its Application in Orthotopic Colorectal Cancer

LI Jingyi, WANG Jie, WANG Rui*
(*School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: Nanoemulsification technology was applied to improve the solubility and oral absorption behaviors of the insoluble Chinese medicine curcumin (**1**), achieving an efficient therapeutic effect for colorectal cancer. The nanoemulsion loaded with **1** was prepared through high-shear emulsification. The observation of transmission electron microscopy showed that the **1** nanoemulsion was spherical, and its particle size was (98.79±1.08) nm. After *in vitro* simulated digestion, (71.03±2.93)% of **1** was still dissolved in the aqueous phase. Moreover, intestinal absorption and pharmacokinetic experiments *in vivo* revealed that the nanoemulsion could promote the intestinal absorption of **1**, especially in the duodenum segment. The **1**-loaded nanoemulsion also exhibited the pharmacokinetic characteristics of fast absorption and slow elimination, and the relative oral bioavailability of **1** was improved to 313.50%. In the orthotopic nude mouse models of colorectal cancer, **1** nanoemulsion could effectively inhibit the tumor growth after oral administration. The weight of harvested tumor tissue in the **1** nanoemulsion treatment group was about 23.91% of that in the phosphate buffer treatment group, indicating that **1** nanoemulsion had an excellent therapeutic prospect in treating orthotopic colorectal cancer.

Key Words: curcumin; nanoemulsion; oral absorption; bioavailability; colorectal cancer

结直肠癌是全球第三大常见肿瘤，其死亡率位于全球恶性肿瘤死亡率的第二位[1]。中国是世界上结直肠癌新病例数和结直肠癌相关死亡人数最多的国家，结直肠癌患者诊断率不到 10%，五年生存率低[2]。目前，化学药物治疗依旧是结直肠癌临床治疗中不可或缺的治疗策略，以氟尿嘧啶、奥沙利铂和伊立替康为主要的临床一线治疗药物，通过静脉输注的方式给药。然而，现有的化疗策略仍存在着患者顺应性差、易耐药、毒性和不良反应大、复发

收稿日期：2022-07-21
作者简介：李婧伊(1997—)，女，硕士研究生，专业方向：难溶性中药口服制剂的研究和开发。
通信作者：王　瑞(1973—)，女，教授，博士生导师，从事中药活性成分、药代动力学、药效物质基础及质量评价等研究。
E-mail：ellawang@163.com

率高等缺陷[3]，急需寻找高效、低毒的治疗药物。

姜黄素（curcumin，**1**）是一种多酚类中药活性成分，可显著抑制结直肠癌细胞的增殖和侵袭[4]。此外，**1** 还可协同抑制结直肠癌肿瘤干细胞增殖，降低肿瘤的复发和耐药性[5]。在临床Ⅱa开放随机对照试验[6]中，接受12个周期的奥沙利铂/氟尿嘧啶/亚叶酸钙组合用药（FOLFOX）治疗方案，并给予2 g/d **1** 治疗的结直肠癌患者客观缓解率（objective response rate，ORR）可达53.3%，总生存率达596 d。而仅接受FOLFOX治疗方案的患者ORR仅为11.1%，具显著性差异。该结果显示，**1** 不仅可单独使用，也可与常见化药联合使用，增强对结直肠癌的疗效并克服耐药性，提高患者生存率[7—8]。**1** 的生物安全性和体内耐受性也已得到广泛认可，无明显不良反应和毒性[7,9]。因此，**1** 是一种临床治疗结直肠癌的潜在药物。然而，**1** 的水溶性和透膜性差，且易被氧化分解[10]，经口服难以吸收，口服生物利用度较低[11]，使临床应用受到严重限制。为提高 **1** 的成药性，亟需通过制剂学手段改善 **1** 的口服吸收行为，从而提高其口服生物利用度。

纳米乳是一种由油相、水相、乳化剂和助乳化剂组成的纳米载体，粒径为10～100 nm，可有效提高难溶性药物的溶解度[12]。纳米乳可显著改善药物对胃肠道生物膜的渗透性和代谢动力学行为，进而提高难溶性药物的口服生物利用度[13]。

本研究通过高能剪切法制备了 **1** 纳米乳（**1**-NC）并表征其粒径、形貌、放置稳定性和体外模拟消化等基本理化性质。另以雄性Sprague-Dawley大鼠为模型进行小肠绒毛吸收试验和体内药动学评价，以评估 **1** 抑制原位结直肠癌肿瘤生长的药理作用。

1 仪器与试药

Tecnai G2 Spirit型透射电镜（TEM，美国FEI公司）；Zetasizer Nano ZS型粒度仪（英国马尔文仪器有限公司）；Synergy H1型酶标仪（美国BioTek公司）；SP8型激光共聚焦显微镜（CLSM，德国Leica有限公司）；T50型电位滴定仪（瑞士Mettler Toledo公司）；PB-10型pH计（德国Sartorius公司）；MCO-18AC型二氧化碳细胞培养箱（日本SANYO公司）。

1 对照品（纯度≥98%，批号20210121）、三羟甲基氨基甲烷、氯化钠、氯化钙、胰酶、盐酸、磷酸二氢钾、马来酸、氢氧化钠、脂肪酶和氨基甲酸乙酯（乌来糖）均购自国药集团化学试剂有限公司；大豆磷脂（PC50，上海太伟药业股份有限公司）；中链脂肪酸甘油三酯（MCT，昆山荣佰生物技术有限公司）；二乙二醇单乙醚［Transcutol HP，嘉法狮（上海）贸易有限公司］；胃蛋白酶和牛磺胆酸钠（上海源叶生物科技有限公司）；异氟烷（瑞沃德生命科技有限公司）；带线缝合针（上海碧云天生物科技有限公司）；青霉素-链霉素双抗溶液、McCOY’s 5A培养基、组织固定液、4',6-二脒基-2-苯基吲哚（4',6-diamidino-2-phenylindole，DAPI）和硫酸葡聚糖钠盐（dextran sulfate，DSS）均购自上海赛抑生物科技有限公司。

Sprague-Dawley大鼠［雄性，SPF级，（200±20）g］和BALB/c裸鼠［雄性，SPF级，（20±2）g］均购自上海斯莱克试验动物有限责任公司，生产许可证编号SCXK（沪）2017-005，由中国科学院上海药物研究所动物试验中心提供并饲养，所有动物试验操作严格遵从试验动物使用与管理委员会规章制度。

人结直肠癌细胞（HT-29细胞）购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库，于含10%胎牛血清和1%双抗（青霉素-链霉素）的McCOY’s 5A完全培养基中，37 ℃、5% CO_2 条件下培养，取对数生长期的细胞进行细胞试验。

2 方法与结果

2.1 **1**-NC的制备及表征

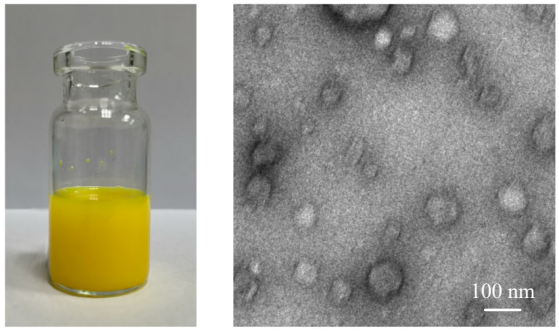
2.1.1 **1**-NC制备

MCT是制备纳米乳常用的油相种类，可提高 **1** 的生物有效性[14]，且 **1** 在MCT中溶解度较好，可达5.1 mg/mL，故选择MCT作为 **1**-NC的油相。PC50属于O/W型乳化剂，乳化能力强，可有效降低界面张力并显著提高纳米乳体系的稳定性[15]。加入助乳化剂Transcutol HP，可在纳米乳滴表面形成稳定的界面膜，进一步减少水油界面张力，提高纳米乳体系的稳定性[16]。

1-NC的制备：称取 **1** 2.5 mg并加入10% MCT和1.2% PC50充分涡旋混匀，加入1% Transcutol HP，涡旋后超声溶解，随后加入87.5%超纯水，并在12 000 r/min的转速下剪切5 min，即得。

2.1.2 外观及形貌

将制得的 **1**-NC 置洁净的西林瓶中，拍摄外观。结果如图 1A 所示，**1**-NC 呈乳黄色液体，透光可见乳光。使用 TEM 表征 **1**-NC 的微观形貌。取适量 **1**-NC，稀释一定倍数后取稀释液 10 μL，滴在亲水化的 400 目（即孔径为 37 μm）铜网上，吸附 1 min 后用滤纸吸去。再用乙酸铀负染 1 min，以红外灯烤至铜网表面无明显溶液残留后，置 TEM 电极杆上进行微观形貌拍摄。结果如图 1B 所示，**1**-NC 形态完整，呈圆球状。



A　　B

A—**1**-NC 的外观图；B—**1**-NC 的 TEM 照片（× 49 000）。

图 1　1-NC 的外观和微观形貌

Fig.1　Appearance and Micromorphology of **1**-NC

2.1.3 粒径与ζ电位

粒径是影响口服药物载体递送效率的重要因素之一，一般认为 100 nm 左右是口服递送载体的较佳粒径范围[17]。本课题组采用动态光散射法测定 **1**-NC 的粒径及其分布。取适量 **1**-NC，稀释一定倍数，涡旋混匀后取稀释液，采用粒度仪测定 **1**-NC 的平均粒径、粒度分布和ζ电位，平行试验 3 次。测试参数为：温度 25 ℃，平衡时间 120 s。结果测得 **1**-NC 粒径为（98.79±1.08）nm，多分散性指数（PDI）为 0.157±0.038，ζ电位为（－47.8±3.6）mV。

2.1.4 含量测定

精密称取 **1** 对照品 5 mg 置 10 mL 棕色量瓶中，使用乙腈溶解并准确配制成 500 μg/mL 的对照品贮备液。用乙腈稀释成质量浓度为 1.00、1.25、2.50、5.00、10.00、25.00 和 50.00 μg/mL 的待测溶液，再用酶标仪测定 420 nm 处的吸光度，以质量浓度（c）为横坐标、吸光度（D）为纵坐标，线性回归，得到标准曲线方程 D=0.058 4c+0.075 2（R^2=0.999 9）。该检测方法专属性和重复性良好，样品溶液在 24 h 内稳定性良好，精密度小于 2.00%，加样回收率符合含量检测要求。

2.1.5 包封率与载药量测定

取 **1**-NC 0.50 mL 置量瓶中，超声破乳，静置至室温后用乙腈定容，采用酶标仪测定吸光度，并计算 **1**-NC 中 **1** 的总量（$m_{总}$）。另取制备好的 **1**-NC 0.50 mL，用 0.45 μm 微孔滤膜过滤以除去 **1** 沉淀。随后取滤液适量，同上进行破乳后定容，使用酶标仪测定 420 nm 处的吸光度，计算得到游离与被包封 **1** 的质量（m_1）；另取滤液离心超滤（7 400×g，截留分子量 50 000）20 min 后，取超滤液测定吸光度，得到游离 **1** 的量（$m_{游离}$）。按式①计算得 **1**-NC 的平均包封率（EE）为（96.69±2.00）%（n=3），按式②计算平均载药量（DL）为（5.18±0.15）%（n=3）。

$$EE=\frac{m_1-m_{游离}}{m_{总}}\times 100\% \qquad ①$$

$$DL=\frac{m_1-m_{游离}}{m_{NE}}\times 100\% \qquad ②$$

式中：m_1 为游离与被包封 **1** 的总量；m_{NE} 为 **1**-NC 总质量。

2.1.6 放置稳定性

将 **1**-NC 在 25 ℃避光条件下放置 30 d，每 3 d 取样并检测其粒径、PDI、EE 和 DL（n=3）。所得数据均采用 GraphPad Prism 8 软件进行统计学分析，多组之间进行单因素方差分析，两组之间进行 t 检验。P<0.05 被认为有显著性差异，具有统计学意义。

结果如图 2A 所示，放置 30 d 后，粒径较之前略有减小，为（97.73±2.88）nm，但无显著性差异（P>0.05）；PDI 有增大的趋势，d30 的 PDI 为 0.172±0.017。如图 2B 所示，d30 的 EE 为（96.07±1.24）%，DL 为（5.11±0.15）%，也均无显著性差异（P>0.05）。放置 30 d 期间的体外稳定性结果说明，**1**-NC 稳定性良好，这为后续的口服吸收评价和原位结直肠癌治疗方面的研究奠定了基础。

2.1.7 体外消化

体外消化试验可较好地模拟 **1**-NC 在胃肠道中

的药物释放行为，进而预测 **1**-NC 的在体吸收行为。

空腹消化缓冲液：用超纯水配制，含三羟甲基氨基甲烷 50 mmol/L、氯化钠 150 mmol/L、氯化钙 5 mmol/L、牛磺胆酸钠 5 mmol/L 和 PC50 1.25 mmol/L，超声溶解后，用 50 mmol/L 马来酸水溶液调至 pH 7.50±0.05。

取空腹消化缓冲液 10 mL 于滴定杯中，预热至 37 ℃，加入超纯水 8.5 mL 和 **1**-NC 0.50 mL，置 37 ℃水浴中加热并搅拌，用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液调至 pH 7.50±0.05 后，加入 10% 脂肪酶溶液开始消化反应。反应持续 1 h，使用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液进行电位滴定，使滴定杯中的 pH 值维持在 7.50±0.05，每 5 min 记录氢氧化钠溶液消耗体积。以反应时间为横坐标、氢氧化钠溶液消耗体积为纵坐标绘制体外模拟消化曲线。平行试验 3 次，结果如图 3 所示。反应停止后，在 500 r/min 快速搅拌下进行反应后消化液取样，离心（7 400×*g*）15 min，分离油相层、水相层和沉淀。分别收集各相，按“**2.1.4**”项下方法测定 **1** 含量，并计算 **1** 在各相中的含量（*n*=3）。

结果显示，**1**-NC 整体呈现出快速消化的性能。由于 **1**-NC 的油相为 MCT，其碳链较短，与消化酶接触的表面积大，导致其消化速率大。如图 3 所示，0 ～ 5 min，**1**-NC 快速消化，15 min 后消化反应趋于平稳。体外消化试验终点时快速搅拌、离心，结果显示离心后未出现油相层，因此收集水相层和沉淀，按“**2.1.4**”项下方法测定 **1** 含量。经体外模拟消化后，**1**-NC 中有（22.67±2.47）% 的 **1** 在消化液中以沉淀形式析出，仍有（71.03±2.93）% 的药物溶解于消化液水相中。上述结果显示，**1**-NC 经模拟消化后，仍有大部分 **1** 溶于消化液水相中，有利于被机体吸收。

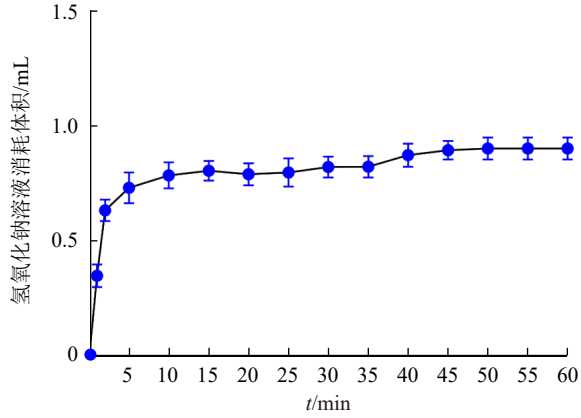
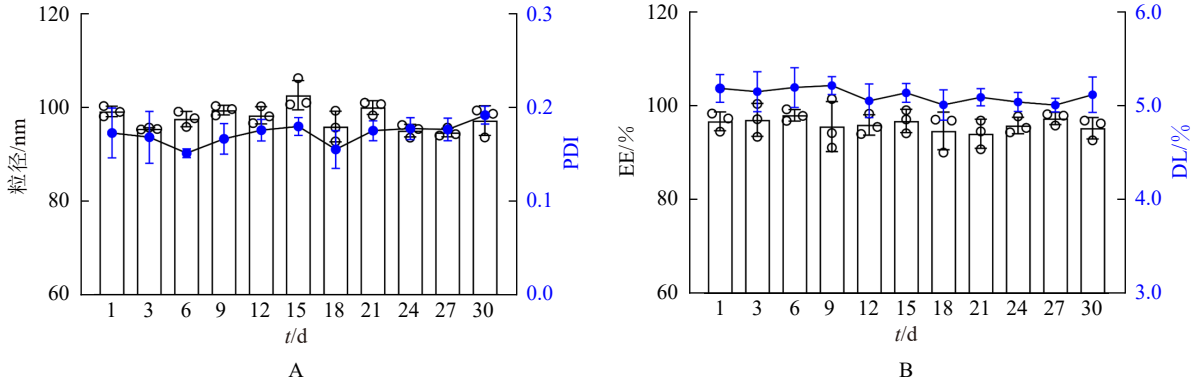


图 3　1-NC 的体外消化曲线（*n*=3）

Fig.3　*In vitro* Digestive Curves of **1**-NC (*n*=3)

2.2　离体肠吸收

为了进一步评价 **1**-NC 在体内真实环境下的吸收行为，进行了离体肠吸收试验以考察 **1**-NC 的小肠绒毛吸收行为。试验前大鼠禁食过夜，可自由饮水。照大鼠体质量的 0.7% 进行乌来糖腹腔麻醉，并沿腹中线解剖。依次找到十二指肠段、空肠段和



A—30 d 内 **1**-NC 的粒径（柱状）及 PDI（折线）变化；B—30 d 内 **1**-NC 的 EE（柱状）及 DL（折线）变化。

图 2　1-NC 的体外稳定性（*n*=3）

Fig.2　*In vitro* Stability of **1**-NC (*n*=3)

回肠段并结扎成 2 cm 肠段，分别灌注 500 μg/mL 的 **1**-NC 和游离 **1**（即 **1** 的 0.1%羧甲纤维素钠混悬液，**1**-FC）。孵育后剪下肠段，清洗并翻转肠段绒毛，于 4%多聚甲醛溶液中固定 3 h 后脱水过夜，冷冻切片。随后使用 CLSM 拍摄 **1** 在小肠绒毛中的吸收情况。结果如图 4A 所示，**1**-FC 组 **1** 的绿色荧光主要散布于小肠绒毛外围，无法实现有效的小肠吸收，而 **1**-NC 组 3 种小肠段绒毛中的绿色荧光强度显著强于 **1**-FC 组，且小肠绒毛内部同样存在 **1** 的绿色荧光（图 4A 中白色箭头所示）。

使用 Image J 1.8.0 软件进行荧光半定量分析，结果如图 4B 所示，相较于 **1**-FC 处理组，**1**-NC 处理组在十二指肠、空肠和回肠中的绿色荧光强度分别提升了 3.86、1.54 和 2.72 倍，具有显著性差异（P<0.001）。**1** 经过纳米乳化后在十二指肠的离体吸收能力较强，整体荧光强度趋势呈现的是十二指肠 > 空肠 > 回肠，十二指肠段的荧光强度分别是空肠段和回肠段的 1.47 和 2.06 倍。

2.3　药代动力学试验

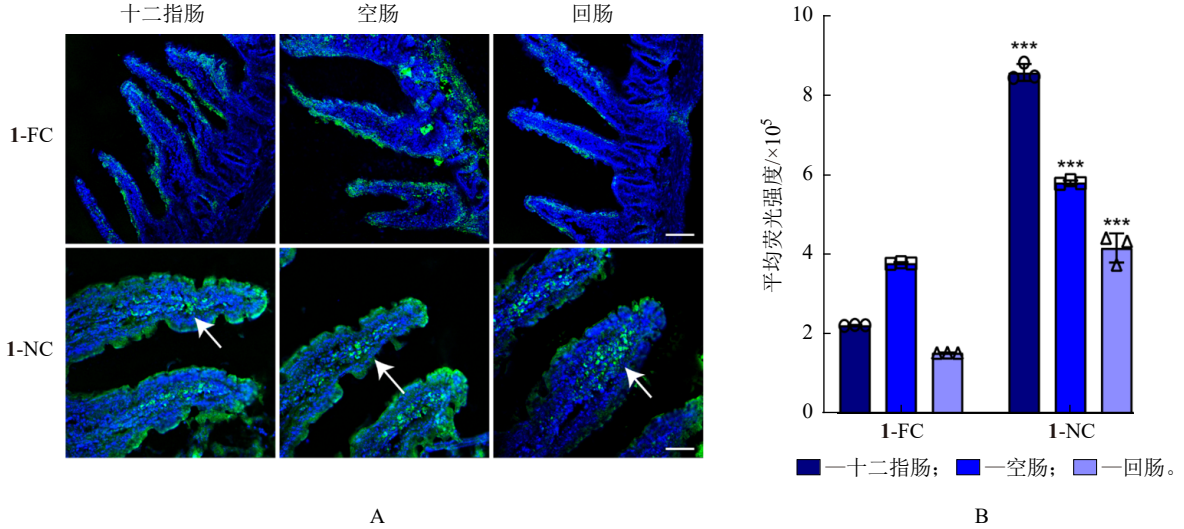
2.3.1　**1** 体内含量检测方法

精密称取 **1** 对照品 5 mg 于 10 mL 棕色量瓶中，用甲醇配制成 500 μg/mL 的对照品贮备液。分别精密吸取 **1** 对照品贮备液 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00 mL，各置 10 mL 量瓶中，再加入 0.50 mL 空白大鼠血浆，用甲醇定容，离心（7 400×g）15 min，取上清液待测。使用酶标仪测定荧光强度（激发波长为 430 nm，发射波长为 550 nm，增益 80），以质量浓度（c）为横坐标、荧光强度（I）为纵坐标，进行线性回归，得到标准曲线 I=386.18c+8.456 2（R^2=0.999 2）。该检测方法的专属性、重复性和精密度良好，符合生物样本含量检测要求。此外，计算得到低、中和高质量浓度（1.25、5.00 和 25.00 μg/mL）血样中 **1** 的提取回收率分别为 87.29%、89.40%和 90.85%，均在 85%～115%的范围内，符合生物样本药物含量检测的要求。

2.3.2　药动学试验方案与结果

普通雄性 Sprague-Dawley 大鼠适应性饲养后，随机分组，每组 6 只。试验前禁食过夜，自由饮水。试验当天灌胃给予 **1**-FC 和 **1**-NC（**1** 给药剂量均为 50 mg/kg），分别在不同时间点（0、1、2、4、6、8、10、12、24 h）于眼眶后静脉丛采血 0.75 mL，置经肝素钠处理的离心管中，4 ℃离心（1 800×g）10 min，取上层血浆，于 －20 ℃保存待测。

取待测血浆于离心管中，加入等体积甲醇，剧



A—在不同小肠段中的 CLSM 照片（标尺：100 μm）；B—对 A 图进行荧光半定量后的各肠段平均荧光强度。

图 4　在不同小肠段中的 1 吸收性能（与 **1**-FC 组相应肠段相比，*** 表示 P<0.001；n=3）

Fig.4　The *in vivo* Absorption of **1** in Different Small Intestinal Segments

(Compared with the Corresponding Segment of **1**-FC Group, *** Represents P<0.001; n=3)

烈涡旋破乳，然后离心（7 400×*g*）15 min，取上清液，使用酶标仪按“**2.3.1**”项下方法检测药物含量。

结果如图 5 所示，**1** 经过纳米乳包载后，表现出快速吸收的现象，具体的药代动力学参数如表 1 所示。t_{max} 由（1.50±0.89）h 缩短至（0.58±0.20）h；**1**-NC 处理组的 c_{max} 是 **1**-FC 处理组的 2.19 倍。**1** 经过纳米乳包载后的口服相对生物利用度达到 313.50%。以上药动学参数说明 **1** 经过纳米乳包载后呈现出吸收快、消除慢的药物代谢动力学特征，显著提高了 **1** 的口服生物利用度。

表 1　1-FC 和 1-NC 的主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab.1　Main Pharmacokinetic Parameters of **1**-FC and **1**-NC ($\bar{x}\pm s$, n=6)

参数	**1**-FC	**1**-NC
$t_{1/2}$/h	8.75±1.35	13.13±2.72[1)]
t_{max}/h	1.50±0.89	0.58±0.20
c_{max}/(μg·L^{-1})	133.93±39.25	293.14±21.44[1)]
$AUC_{0\to t}$/(μg·h·L^{-1})	590.49±94.13	1 851.20±183.02[2)]
$AUC_{0\to\infty}$/(μg·h·L^{-1})	1 018.35±251.12	2 496.20±343.98[2)]
F/%	—	313.50±1.94
MRT/h	16.66±2.90	28.09±17.70[1)]

注：与 **1**-NC 处理组相比，[1)] P<0.05，[2)] P<0.01。

2.4　结直肠癌治疗

2.4.1　原位结直肠癌造模

选用 BALB/c 裸鼠构建原位结直肠癌动物模型。喂养含 2% DSS 饮用水 14 d。裸鼠用水合氯醛麻醉，腹部开口以暴露盲肠，在每只鼠结肠肠壁上注射约 5×10^5 个 HT-29 细胞后缝合开口处。14 d 后随机安乐死 3 只裸鼠并解剖，结直肠段肠壁上均可见肿瘤组织，认为原位造模成功，可待后续试验。

2.4.2　药效学试验

将荷瘤裸鼠随机分组，每组 6 只。分别为 **1**-FC 处理组和 **1**-NC 处理组，以 50 mg/kg 的 **1** 剂量进行为期 21 d 的抗肿瘤药效学试验（分别在 1、3、6、9、12、15、18 和 21 d 进行灌胃给药），并以灌胃给予等体积磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.4）的裸鼠为 PBS 处理组。试验期间每 2 d 测定裸鼠体质量，变化趋势如图 6 所示。结果表明，各组均呈现体质量下降趋势，符合结直肠癌病情发展规律。各组裸鼠的体质量主要集中在 20 ～ 25 g，整体变化波动小，无

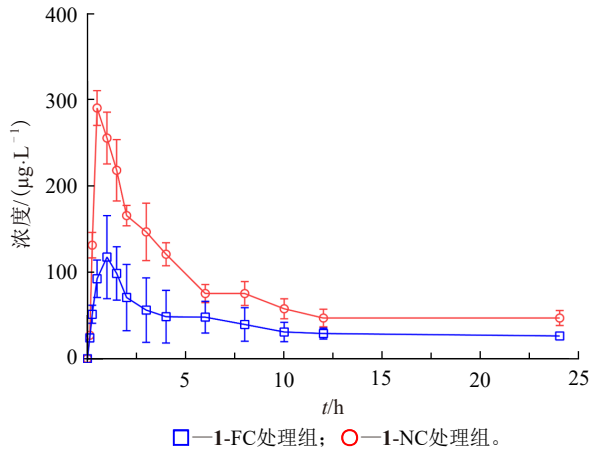


图 5　不同 1 制剂灌胃后的药 - 时曲线（n=6）

Fig.5　Plasma Concentration-time Curves of Different Dosage Forms of **1** after Irrigation (n=6)

显著性差异（P>0.05），证明本项下受试制剂的安全性较高。

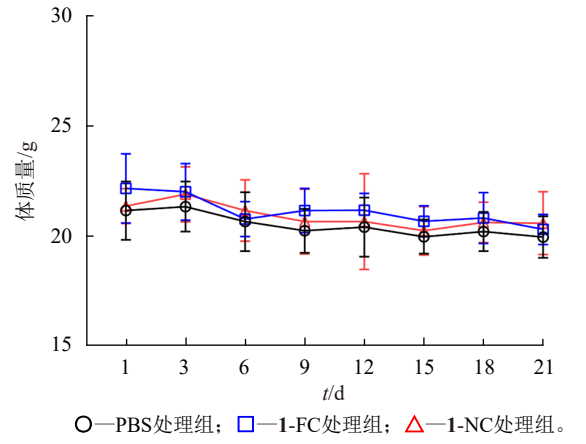


图 6　荷原位结直肠肿瘤裸鼠的体质量曲线（n=6）

Fig.6　Body Weight Curves of Orthotopic Colorectal Tumor-bearing Nude Mice (n=6)

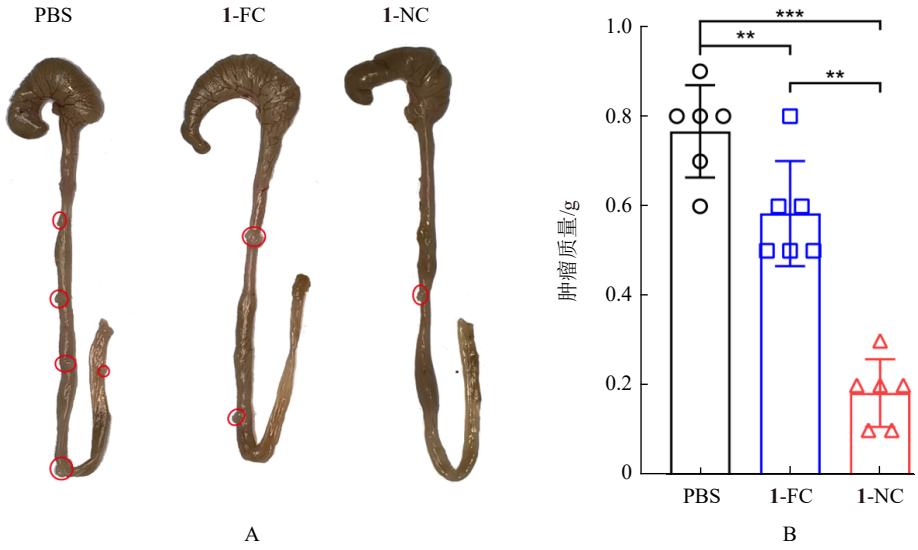
在药效学试验终点进行裸鼠解剖并在结直肠段取材，对其进行直观拍照，结果如图 7A 所示。图中红色圆圈标记的是裸鼠结直肠段的肿瘤组织，可以直观看到 PBS 处理组中肿瘤组织数量多且体积大，散布在结直肠段各部位。在 **1**-FC 处理组裸鼠结直肠段中，肿瘤组织数目略有减少。**1**-NC 处理组裸鼠的肿瘤组织体积显著减小，表明 **1**-NC 具有较优的抗原位结直肠癌效果。在药效学试验终点对

各组裸鼠结直肠段进行肿瘤组织剥离并称定，结果如图 7B 所示。PBS 处理组的肿瘤质量为 (0.77±0.10) g；**1**-FC 表现出一定的抗肿瘤活性，该组剥离的肿瘤质量为 (0.58±0.12) g，降低至 PBS 处理组的 76.09%；**1**-NC 有显著的抗肿瘤作用，该组肿瘤质量为 (0.18±0.08) g，约为 PBS 处理组的 23.91%。综上所述，**1**-NC 可有效抑制原位结直肠癌生长。

此外，分别收集了裸鼠的心、肝、脾、肺、肾和结肠段进行苏木精 - 伊红（H&E）切片染色，结果如图 8 所示。PBS 处理组的结直肠肿瘤组织细胞分布致密且细胞核为深紫色，呈恶性增殖状态；而在 **1**-NC 处理组中，细胞核稀疏且分布不均一，表明肿瘤细胞已凋亡，进一步佐证了 **1**-NC 的抗肿瘤功效。另一方面，其他脏器（心、肝、脾、肺和肾）无明显组织或细胞上的形态差异，说明 **1**-NC 的生物安全性良好。

3　讨论

1 是主要来源于姜科植物姜黄（*Curcuma longa*



A—结直肠段直观图；B—各组结直肠癌原位肿瘤组织质量（** 表示 P<0.01，*** 表示 P<0.001；n=6）

图 7　药效学试验终点的结直肠段表征

Fig.7　Characterization of the Colorectal Segment Harvested at the End of Pharmacodynamics

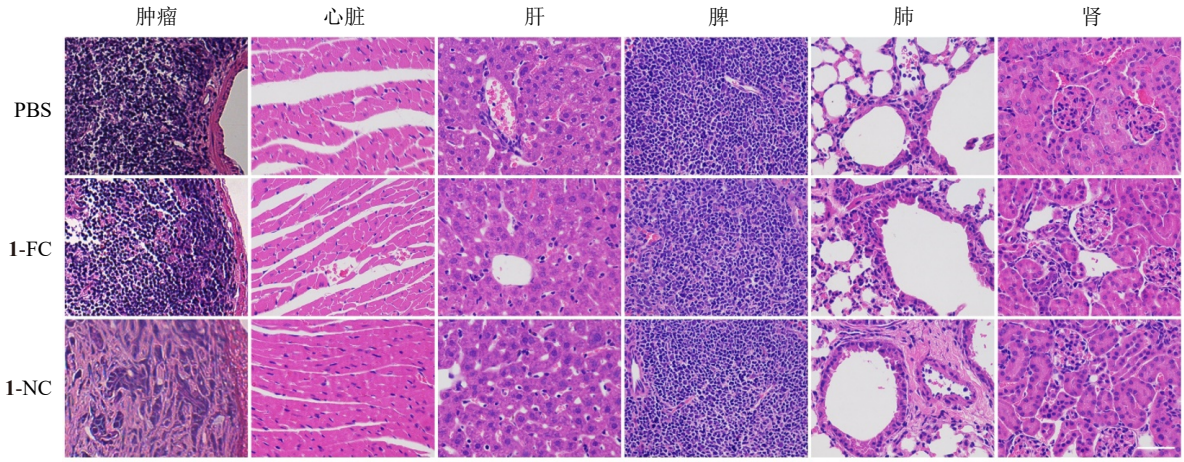


图 8　不同组织的 H&E 染色图（标尺：500 μm）

Fig.8　H&E Staining Images of Different Tissues (Scale Bar: 500 μm)

L.）根茎、郁金（*Curcuma aromatica* Salisb.）块根、莪术（*Curcuma aeruginosa* Roxb.）根茎和天南星科植物菖蒲（*Acorus calamus* L.）根茎等中药的一种多酚类活性成分。已有大量的体内外研究表明，**1** 可多靶点、协同发挥抗结直肠癌功效，也可作为氟尿嘧啶和卡培他滨等化疗药的辅助药。目前，临床在研数据表明，**1** 安全性良好，但还需进一步开发生物利用度更高的 **1** 新剂型，以推进后续临床应用[7]。

本研究制备的 **1**-NC 包封效果优异，平均载药量为（5.18±0.15）%，可有效提高难溶性药物 **1** 的溶解性并展现出良好的稳定性。且 **1**-NC 处方简单、制备简易，有利于中试放大和临床转化。体外试验中模拟了消化过程，结果表明纳米乳化可显著提高难溶性药物 **1** 的亲水性，为后续的体内外试验提供了良好的制剂基础。在动物水平上，十二指肠段为主要吸收部位，**1** 经纳米乳化后呈现出吸收快、消除慢的药物代谢动力学特征，可显著提高口服生物利用度，有利于药物吸收入血并发挥抗肿瘤功效。在原位结直肠癌裸鼠模型中，**1**-NC 经口服给药后展现出优异的抗肿瘤功效，可有效抑制结直肠癌细胞增殖，且对机体其他脏器无明显毒性。

综上所述，本研究制备的 **1**-NC 可显著改善难溶性药物 **1** 的口服生物利用度和成药性，为 **1** 口服制剂用于结直肠癌的治疗提供了新可能。

参考文献：

[1] KEUM N, GIOVANNUCCI E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, **16**(12): 713-732.

[2] YANG Y, HAN Z H, LI X, *et al*. Epidemiology and risk factors of colorectal cancer in China [J]. *Chin J Cancer Res*, 2020, **32**(6): 729-741.

[3] ZAFAR S N, HU C Y, SNYDER R A, *et al*. Predicting risk of recurrence after colorectal cancer surgery in the united states: an analysis of a special commission on cancer national study [J]. *Ann Surg Oncol*, 2020, **27**(8): 2740-2749.

[4] WENG W H, GOEL A. Curcumin and colorectal cancer: an update and current perspective on this natural medicine [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, **80**: 73-86.

[5] HUANG Y T, LIN Y W, CHIU H M, *et al*. Curcumin induces apoptosis of colorectal cancer stem cells by coupling with CD44 marker [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, **64**(11): 2247-2253.

[6] HOWELLS L M, IWUJI C O O, IRVING G R B, *et al*. Curcumin combined with FOLFOX chemotherapy is safe and tolerable in patients with metastatic colorectal cancer in a randomized phase Ⅱa trial [J]. *J Nutr*, 2019, **149**(7): 1133-1139.

[7] RUIZ DE PORRAS V, LAYOS L, MARTíNEZ-BALIBREA E. Curcumin: a therapeutic strategy for colorectal cancer? [J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, **73**: 321-330.

[8] ELBADAWY M, HAYASHI K, AYAME H, *et al*. Anti-cancer activity of amorphous curcumin preparation in patient-derived colorectal cancer organoids [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, **142**: 112043.

[9] PRASAD S, GUPTA S C, TYAGI A K, *et al*. Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back [J]. *Biotechnol Adv*, 2014, **32**(6): 1053-1064.

[10] WAHLANG B, PAWAR Y B, BANSAL A K. Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the Caco-2 cell model [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, **77**(2): 275-282.

[11] RACHMAWATI H, EDITYANINGRUM C A, MAULUDIN R. Molecular inclusion complex of curcumin-β-cyclodextrin nanoparticle to enhance curcumin skin permeability from hydrophilic matrix gel [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2013, **14**(4): 1303-1312.

[12] RAHN-CHIQUE K, PUERTAS A M, ROMERO-CANO M S, *et al*. Nanoemulsion stability: experimental evaluation of the flocculation rate from turbidity measurements [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2012, **178**: 1-20.

[13] PENG Y R, MENG Q L, ZHOU J, *et al*. Nanoemulsion delivery system of tea polyphenols enhanced the bioavailability of catechins in rats [J]. *Food Chem*, 2018, **242**: 527-532.

[14] AHMED K, LI Y, MCCLEMENTS D J, *et al*. Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: encapsulation and release properties [J]. *Food Chem*, 2012, **132**(2): 799-807.

（下转第576页）

507.

[6] ZHU Y, YAN J, LIU C, *et al*. Modeling interactions between a β-*O*-4 type lignin model compound and 1-allyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid [J]. *Biopolymers*, 2017, **107**(8): e23022.

[7] 曾艳玲, 盘赛昆. 基于纳米混悬技术盐酸齐拉西酮胶囊的制备及质量评价[J]. 中国医院药学杂志, 2021, **41**(14): 1423-1429.

[8] 连王权, 沈成英, 申宝德, 等. 微型化介质研磨法制备延胡索乙素纳米混悬剂[J]. 沈阳药科大学学报, 2020, **37**(3): 202-209.

[9] 葛云龙, 赵修华, 祖元刚, 等. 姜黄素纳米粒冻干粉的反溶剂法制备工艺优化及溶出特征[J]. 中草药, 2016, **47**(14): 2447-2453.

[10] 刘阳丹, 邸　欣, 王　鑫, 等. 分子模拟技术对布洛芬固体分散体稳定性分子机制的预测[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, **34**(5): 362-368.

[11] ZHAO H, LIU C, YANG D, *et al*. Molecular mechanism of ion-pair releasing from acrylic pressure sensitive adhesive containing carboxyl group: roles of doubly ionic hydrogen bond in the controlled release process of bisoprolol ion-pair [J]. *J Control Release*, 2018, **289**: 146-157.

（上接第561页）

[15] DAMMAK I, SOBRAL P J D A, AQUINO A, *et al*. Nanoemulsions: using emulsifiers from natural sources replacing synthetic ones—a review [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, **19**(5): 2721-2746.

[16] ZHANG J J, LI J B, JU Y, *et al*. Mechanism of enhanced oral absorption of morin by phospholipid complex based self-nanoemulsifying drug delivery system [J]. *Mol Pharm*, 2015, **12**(2): 504-513.

[17] WANG Y Y, PI C, FENG X H, *et al*. The influence of nanoparticle properties on oral bioavailability of drugs [J]. *Int J Nanomed*, 2020, **15**: 6295-6310.