

人参皂苷 Ro 胶束化影响因素的介观模拟研究*

□戴幸星 王宇光 (首都医科大学中医药学院 北京 100069)

史新元** 乔延江** (北京中医药大学中药学院 北京 100102)

摘要:为研究中药制剂过程中不同因素对人参皂苷 Ro 胶束化的影响,指导中药难溶性成分增溶,本文采用介观动力学方法(MesoDyn),考察 Ro 的临界胶束浓度(CMC)及聚集形态随温度、难溶性药物柴胡皂苷 a(SSa)的浓度及体系盐强度的变化。结果表明,常温条件下 Ro 的 CMC 约为 1.29% (V/V);随着温度升高,CMC 升高,胶束形成时间延长,不利于 Ro 胶束形成;难溶性药物 SSa 可在水溶液中先聚集成核,促进 Ro 的聚集,从而使其 CMC 随 SSa 浓度的增加而显著降低;体系盐强度对 Ro 的 CMC 无显著影响。

关键词:介观模拟 人参皂苷 Ro 增溶 临界胶束浓度

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2012.04.004

中药制剂多来源于复方,成分复杂,许多成分在体外具有较强药理活性,但由于其溶解度小,生物利用度较低,不利于药效的发挥。因此,难溶性药物的增溶已成为目前药剂学工作亟待解决的问题之一。中药皂苷成分作为天然的生物表面活性剂,具有较强的生物活性与表面活性作用,不仅可发挥药效,还能够增溶复方中的难溶性有效成分,具有一定的药用辅料作用,这被认为是配伍增溶的机理之一^[1,2]。研究表明,在小柴胡汤中,人参皂苷 Ro (简称 Ro) 在溶液中能够聚集形成胶束,增加君药柴胡当中的难溶性有效成分柴胡皂苷 a (简称 SSa) 溶解度,从而增强柴胡的药效^[3]。虽然对 Ro 的增溶作用已有一定的认识,但现有研究未能对制剂过程中影响

Ro 增溶性能的因素,如温度、难溶性药物浓度及体系盐强度等进行深入考察,不利于 Ro 作为安全有效的天然增溶性辅料在中药制剂中的开发与应用。

皂苷聚集体处于介观尺度(10~1000 nm),相分离时间短,应用现代分析技术难以阐明相分离过程。而采用介观模拟可直观、动态地研究介观尺度下不同因素对聚集体相行为的影响,利于机理探讨,适合于表面活性剂相分离过程及其与化合物间的相互作用研究^[4-9]。介观动力学模拟(Meso-Dyn)是常用的介观模拟方法,在研究相分离与相形貌上具有优势。本文采用介观动力学模拟方法初步考察了不同温度、SSa 浓度及体系盐强度对 Ro 临界胶束浓度(CMC)及介观形貌的影响,以反映不同因素对 Ro 胶束化的影响,从而为中药制剂过程提供指导。

收稿日期:2012-07-09

修回日期:2012-08-13

* 国家自然科学基金面上项目(81073058/H2806)“基于计算机模拟的中药皂苷类成分复方配伍增溶机理研究,负责人:史新元;北京市“中药基础与新药研究重点实验室”,负责人:乔延江。

** 通讯作者:史新元,副教授,主要研究方向:中药信息工程,Tel 010-84738621,E-mail:shixinyuan01@163.com;乔延江,本刊编委,教授,北京中医药大学副校长,主要研究方向:中药信息工程,中药新药研发,Tel 010-84738621,E-mail:yjqiao@263.net。

一、介观动力学 (MesoDyn) 理论方法

介观动力学方法是基于平均场密度泛函理论的计算方法，以粗粒化方式描述复杂流体行为，得到体系密度和势能场随时间的演变过程，结果可由等密度图及有序参数来进行分析^[10]。等密度图是由一系列密度相同的点构成的面，可反映聚集体构型的变化。有序参数用于反映体系相分离的过程与程度，其定义为：

$$P = \theta - \theta^2 = \frac{\int_V \sum_I [\theta_I^2(r) - (\theta_I^0)^2] dr}{V}$$

有序参数值越大，表明相分离程度越大。

采用介观动力学方法对体系进行模拟时，需要用包含不同珠子的 Gaussian 链来替代化合物，每个

珠子表示一团相关联的原子簇，并计算不同珠子间的相互作用参数。

1. 珠子的划分

Ro 与 SSa 均为 5 环三萜苷类化合物，经过考察，本文采用如图 1 所示的粗粒化珠子划分方式：苷元的 5 个环以 5 个相同的珠子代替，M 表示 Ro 疏水珠子，N 表示 SSa 疏水珠子；每一个糖以一个珠子表示，GA 为葡萄糖醛酸，G 为葡萄糖，F 为夫糖；一个水分子以一个珠子 W 代替。所有珠子经 Discovery 模块优化后参与下一步计算。

2. 相互作用参数的计算

MesoDyn 中另一个重要的输入参数即珠子间的相互作用参数 ϵ_{ij} ，可由 Flory-Huggins 参数 χ 通过公式 $\epsilon_{ij} = \chi_{ij}RT$ 计算得到，结果见表 1。其中， χ_{ij} 采

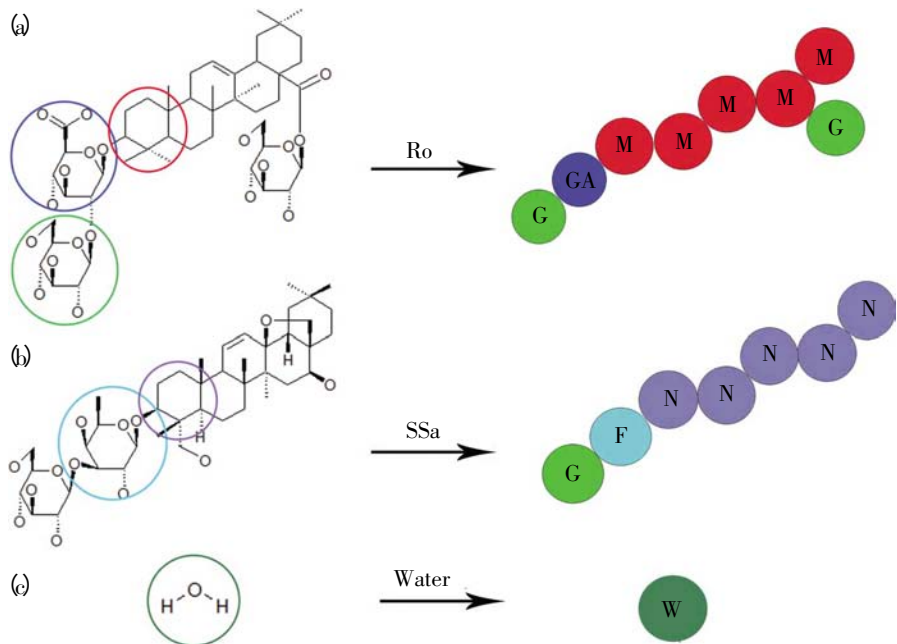


图 1 珠子划分方式
注：(a) Ro；(b) SSa；(c) water。

表 1 MesoDyn 相互作用输入参数

	M	G	GA	N	F	W
M	0					
G	18.63583	0				
GA	21.36526	-0.88555	0			
N	0	18.63583	21.36526	0		
F	10.58693	0.701731	1.639121	10.58693	0	
W	23.61074	3.058319	7.351101	23.61074	12.40741	0

用 Blends 模块计算获得。

3. 模拟条件的设置

模拟计算在 $32\text{ nm} \times 32\text{ nm} \times 32\text{ nm}$ 的周期性边界条件三维立方格子中进行,扩散系数为 $10^{-7}\text{ cm}^2/\text{s}$;体系的噪音系数 $\Omega \equiv V^{-1}h^3 = 75.019$ (V 为珠子的体积)。通过前期预实验,设定模拟步幅 $\Delta\tau = 50\text{ ns}$,模拟步数为 20000 步。由于 R_o 在植物体内以盐的形式存在,可被认为是天然的阴离子生物表面活性剂,因此模拟中引入了 Donnan 静电方法。

二、结果与讨论

1. 人参皂苷 R_o 临界胶束浓度 (CMC) 的模拟结果

CMC 是聚合物在溶液当中开始形成胶束时的浓度,也是表面活性剂最重要的性质之一,影响胶束的增溶能力。通常 CMC 越小,其形成胶束的浓度越低,增溶能力越强。

本文首先研究了 R_o 与水的二元混合体系中,随 R_o 浓度增加体系相分离的情况。结果表明,当 R_o 浓度低于 1.29% (V/V) 时,体系呈均相态,溶液中尚无胶束形成(图 2a);而当浓度达到 1.29% (V/V) 时,体系开始发生相分离而出现球状聚集体(图 2b)。故 R_o 在水溶液中的 CMC 约为 1.29% (V/V)。

从有序参数的变化可以看出,当 R_o 浓度处于

临界胶束浓度以下时,有序参数值很小,且基本无变化,表明此时体系处于均相状态,未发生相分离(图 2c);而当 R_o 浓度达到临界胶束浓度后,有序参数发生明显变化(图 2d)。珠子 M 与珠子 W 的有序参数值迅速增大,表明二者相互作用强烈。疏水性的珠子 M 与水之间的强排斥力使得 M 倾向于自聚集,并被亲水性珠子 G 与 GA 所形成的亲水性外壳从水中隔绝开而形成强烈的相分离。

2. 温度对 R_o 胶束化的影响

温度对表面活性剂自组装具有一定影响,但对于不同类型表面活性剂影响结果不同^[11]。本文研究了在 $298\text{ K} \sim 373\text{ K}$ 温度范围内, R_o 的 CMC 随温度升高的变化情况,结果见图 3。由图 3 可知, R_o 的 CMC 随温度升高呈近似线性增大,表明 R_o 胶束形成是一个放热过程,温度的升高不利于胶束的形成。

为了进一步研究温度对 R_o 胶束聚集的影响,本文固定 R_o 浓度为 2.0% (V/V) 研究不同温度下体系有序参数的变化,结果见图 4。由图 4 可知,随温度升高,体系发生相分离所用的时间延长(具体相分离所用时间见表 2),再次证明温度升高不利于 R_o 胶束的形成。同时,从图 4 中可以看出,当体系温度较高时,有序参数会出现先增大后减小,然后再进一步增大的过程(图 4c、d)。这表明高温时

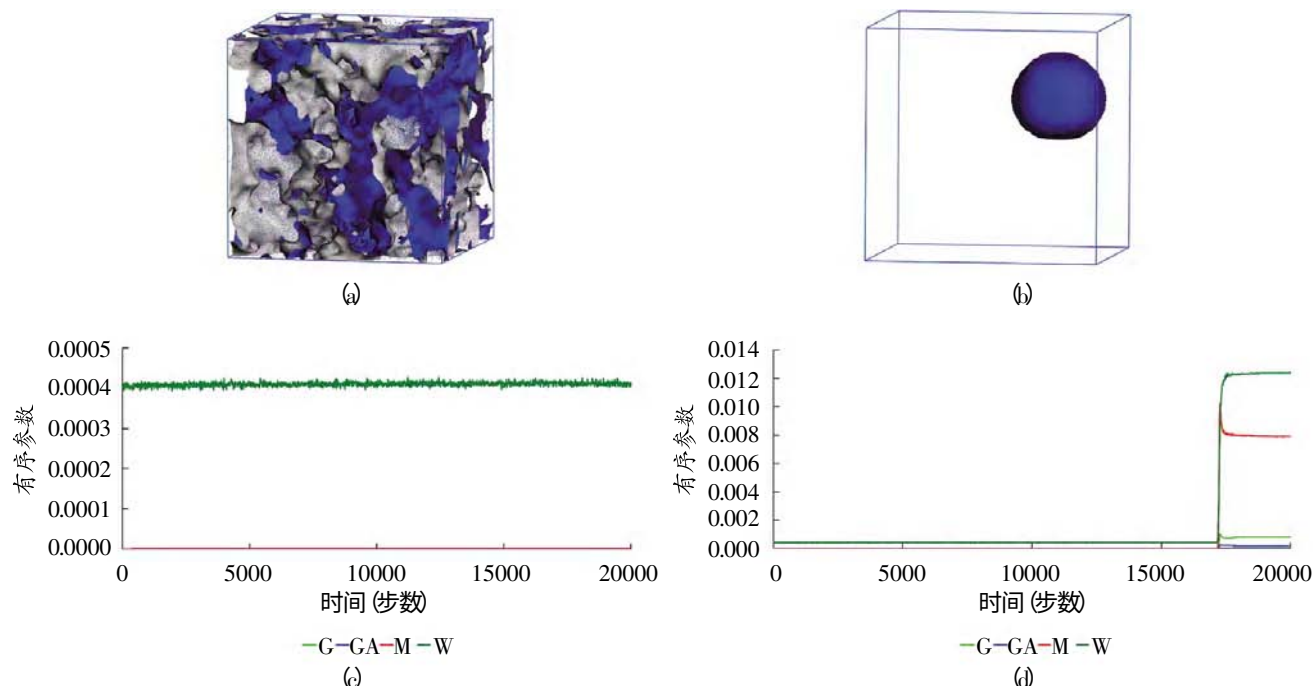


图 2 不同体积分数 R_o 的等密度图及相应的有序参数图

注:(a) 1.28% (v/v) R_o 等密度图;(b) 1.29% (v/v) R_o 等密度图;(c) 1.28% (V/V) R_o 有序参数图;(d) 1.29% (V/V) R_o 有序参数图。

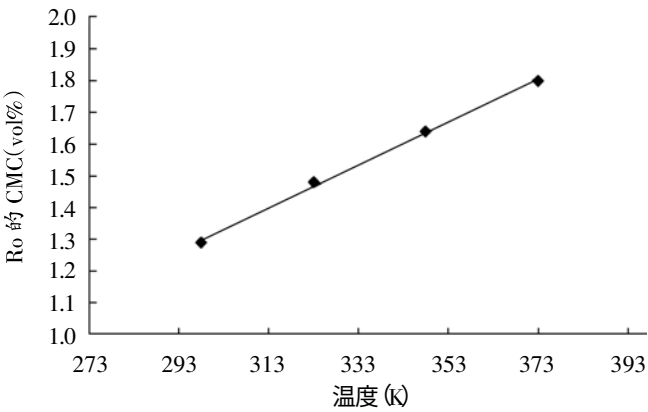


图3 Ro 临界胶束浓度 CMC 随温度升高的变化曲线

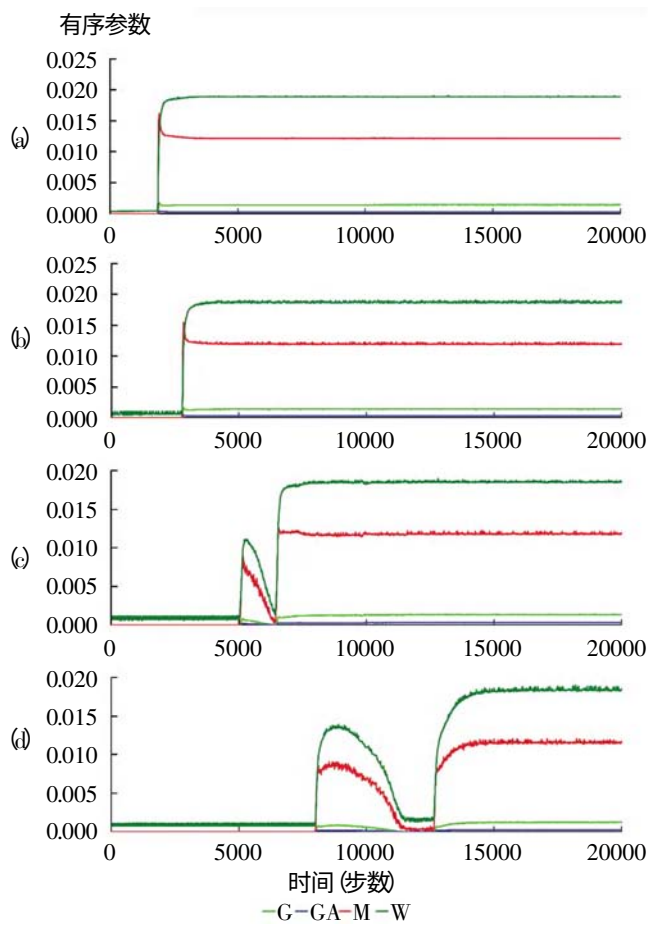


图4 不同温度下 2.0%Ro (V/V) 体系的有序参数图
注: (a) 298K; (b) 323K; (c) 348K; (d) 373K。

表2 温度对 2.0% (V/V) Ro 胶束形成难易程度的影响

温度 (K)	开始相分离的时间 (step)
298	1850
323	2750
348	5030
373	8000

胶束初步形成后由于某种原因发生溶解,而后再进一步形成稳定胶束。究其原因可能是由于温度对胶束形成既有促进作用又有抑制作用。一方面,温度升高可削弱亲水基的水合作用,促进胶束的形成;另一方面,温度升高又会引起分子热运动加剧,破坏疏水基周围水结构,胶束解离增加,从而使胶束形成受到抑制^[12]。

通过对 2.0% (V/V) Ro 体系中不同珠子密度分布的研究发现, Ro 在此浓度下形成具有中心和外壳两个亲水区域的结构,即囊泡结构。随着温度升高,中心亲水珠子 GA 与 G 的密度增大,亲水区域增大,表明温度升高有利于亲水分子向囊泡中心扩散,中心含水量也略有增加,如图 5 所示。

3. 难溶性药物对 Ro 胶束化的影响

中药中含有许多难溶性的药物成分,它们的存在会影响生物表面活性剂的聚集。如在小柴胡汤中,君药柴胡中的难溶性有效成分 SSa 的存在会对 Ro 的 CMC 造成影响。如图 6 所示,随着 SSa 浓度的增加, Ro 的 CMC 减小,且 SSa 浓度越大, CMC 降低的程度越大。同时,随着 SSa 浓度增加, Ro 发生相分离所需的时间越短,且呈幂函数降低(图 7),上述结果均表明,难溶性药物有利于促进胶束的形成。

由 Ro 与 SSa 混合体系有序参数的变化可以看出, SSa 难溶性珠子 N 首先聚集发生相分离,而后 Ro 难溶性珠子 M 才发生相分离(图 8),表明 SSa 促进 Ro 胶束化的原因是由于强疏水性的 SSa 在溶液中聚集形成难溶性的胶束核,而后 Ro 在胶束核基础上进一步聚集形成胶束。

4. 体系盐强度对 Ro 胶束化的影响

Ro 具有可电离基团羧基,且在植物当中以盐的形式存在,因此是一种天然的阴离子表面活性剂。电解质盐作为共溶质在溶液当中对表面活性剂胶束化的影响一直受到广泛的关注^[11]。为了研究盐强度对 Ro CMC 的影响,模拟中采用 Donnan 静电方法,考察了不同盐强度下 Ro 的 CMC。如图 9 所示,随着盐强度的增加, Ro 的 CMC 略有下降,但并不显著,当离子强度大于 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, CMC 基本不变,这一结果与文献报导一致^[3]。溶液中解离的离子与水分子的亲和减少了后者与表面活性剂分子的水合,从而增加胶束的缔合分子数,降低 CMC。 CMC 降低的程度与表面活性剂的疏水链长有关,对于短链分子影响较小,对于长链分子影响较大^[11,13]。 Ro 疏水

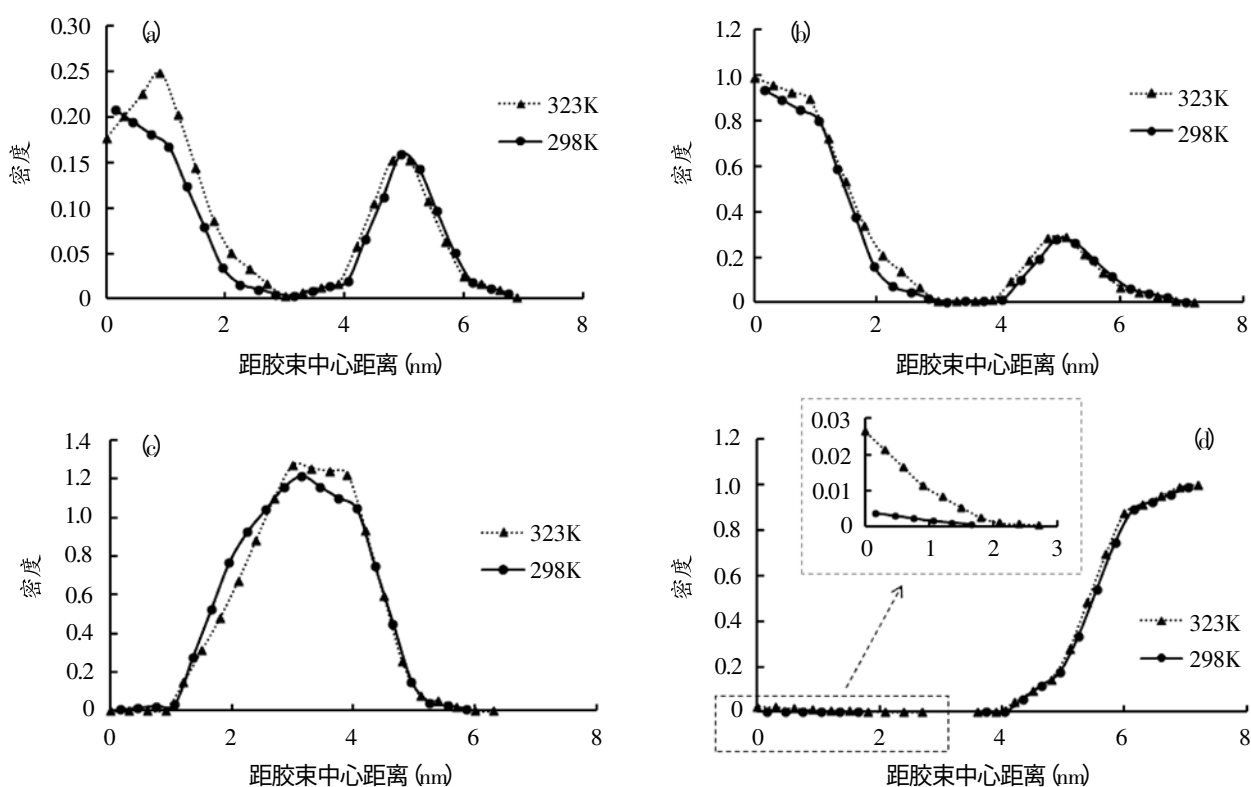


图5 2.0% (V/V) Ro 体系珠子密度分布
注：(a) GA 珠子；(b) G 珠子；(c) M 珠子；(d) W 珠子。

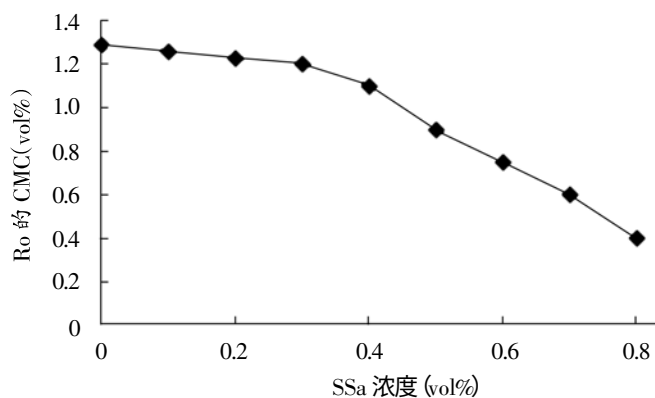


图6 Ro 临界胶束浓度随 SSa 浓度增大的变化曲线

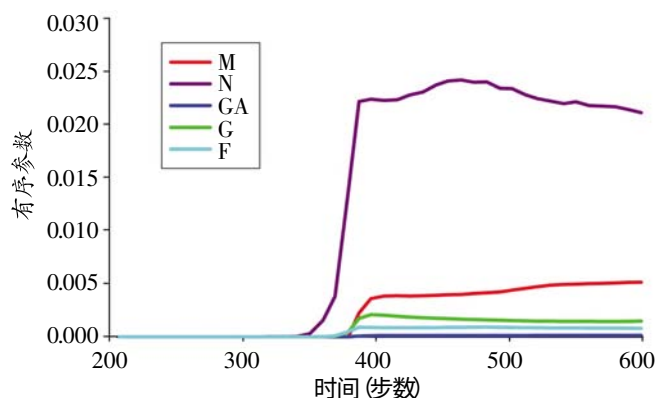


图8 1.3% (V/V) Ro 与 3.0% (V/V) SSa 混合体系有序参数变化图

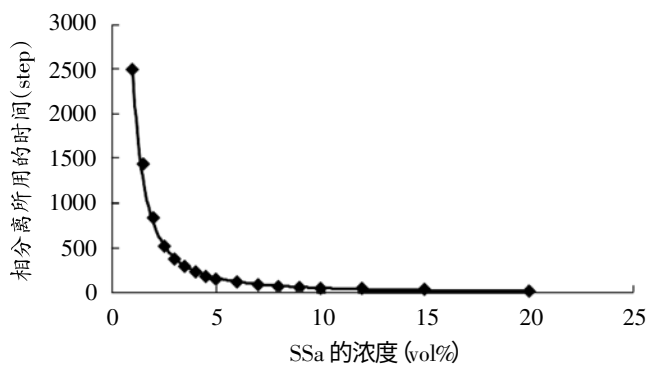


图7 Ro 发生相分离时间随 SSa 浓度增大的变化曲线

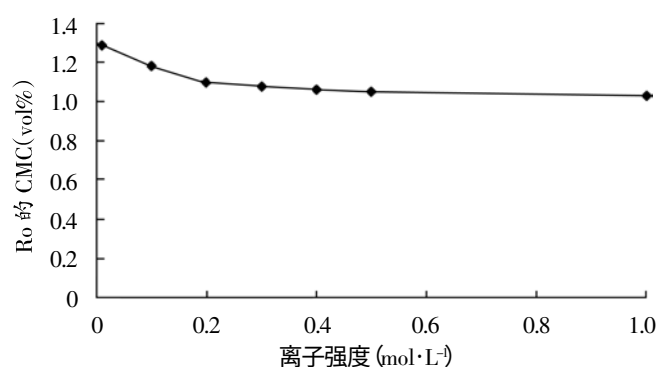


图9 Ro 临界胶束浓度随体系离子强度的变化曲线

部分为 5 个环状结构, 链长较短, 故盐离子对其 CMC 影响较小。

三、结 论

人参皂苷 Ro 作为一种生物表面活性剂在溶液中可聚集形成胶束, 从而增溶难溶性的中药成分, 其胶束形成情况受不同因素影响。本文采用介观模拟方法考察了 Ro 的 CMC, 并探讨了温度、难溶性药物 SSa 的浓度及体系盐强度对 Ro 胶束化的影响。研究结果表明, 常温下 Ro 的 CMC 约为 1.29% (V/V), 随着温度升高, Ro 的 CMC 逐渐降低, 且同浓度下形成胶束的时间延长, 表明温度升高不利于 Ro 的胶束化。随着难溶性药物 SSa 浓度的升高, Ro 的 CMC 显著降低, 表明难溶性药物的存在促进了 Ro 胶束的形成。Ro 的 CMC 随盐强度增加而略有降低, 但影响并不显著。

采用介观模拟技术可快速有效地研究不同因素对生物表面活性剂胶束化的影响, 并直观、动态地对影响机理进行阐释。研究结果不仅为皂苷类生物表面活性剂的增溶研究奠定了基础, 也为其中药制剂中的开发与应用提供依据。

参考文献

- 1 Sasaki Y, Mizutani K, Kasai R, *et al.* Solubilizing Properties of Glycyrrhizin and Its Derivatives: Solubilization of Sakosaponin -a, the Saponin of Bupleuri Radix. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36 (9):3491~3495.
- 2 Walthelm U, Dittrich K, Gelbrich G, *et al.* Effects of saponins on the water solubility of different model compounds. *Planta Med*, 2001, 67(1):49~54.
- 3 Kimata H, Sumida N, Matsufuji N, *et al.* Interaction of Saponin of Bupleuri Radix with Ginseng Saponin: Solubilization of Saikosaponin-a with Chikusetsusaponin V (=Ginsenoside-Ro). *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(7):2849~2853.
- 4 徐姗姗, 史新元, 艾路, 等. 表面活性剂波洛沙姆 188 临界胶束浓度的模拟计算. *世界科学技术—中医药现代化*, 2008, 10 (5): 126~129.
- 5 刘南岑, 史新元, 乔延江. 增溶性辅料泊洛沙姆 188 与胆酸聚集形态的介观模拟. *中国科学: 化学*, 2011, 41(3):500~508.
- 6 Li YM, Xu GY, Chen AM, *et al.* Aggregation between Xanthan and Nonyphenyloxypropyl β -Hydroxyltrimethylammonium Bromide in aqueous solution: MesoDyn simulation and binding isotherm measurement. *J Phys Chem B*, 2005, 109:22290~22295.
- 7 Li YM, Xu GY, Zhu YY, *et al.* Aggregation behavior of Pluronic copolymer in the presence of surfactant: Mesoscopic simulation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2009, 334:124~130.
- 8 Zhao YR, Chen X, Yang CJ, *et al.* Mesoscopic simulation on phase behavior of Pluronic P123 aqueous solution. *J Phys Chem B*, 2007, 111:13937~13942.
- 9 Yang SH, Yuan SL, Zhang XQ, *et al.* Phase behavior of tri-block copolymers in solution: Mesoscopic simulation study. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2008, 322:87~96.
- 10 Fraaije J, Vlimmeren, Maurits, N, *et al.* The dynamic mean-field density functional method and its application to the mesoscopic dynamics of quenched block copolymer melts. *J Chem Phys*, 1997, 106(10):4260~4269.
- 11 Holmberg K, Jönsson B, Kronberg B, *et al.* Surfactants and Polymers in Aqueous Solution (2nd edition). Wiley Press, England, 2002, 2:46~48.
- 12 李一鸣. 多糖高分子与表面活性剂之间的相互作用. 山东大学博士学位论文, 2007:94~96.
- 13 罗明生, 高天惠, 宋民宪. 中国药用辅料. 北京: 化学工业出版社, 2005:95

Mesoscopic Simulation Study on Influencing Factors on Micellization of Ginsenoside Ro

Dai Xingxing¹, Wang Yuguang¹, Shi Xinyuan², Qiao Yanjiang²

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: To get a deep understanding of influencing factors of preparation on micellization of ginsenoside Ro (Ro), mesoscopic simulation had been employed to study the critical micelle concentration (CMC) and morphology changes of Ro with different temperature, concentrations of insoluble drug and salt strength. The results indicate that the CMC of Ro is about 1.29 vol% at room temperature. High temperature tends to inhibit the micellization of Ro and makes higher CMC and longer time for Ro to aggregate. However, the insoluble drug SSa can facilitate the micellization process because the hydrophobic cores formed by SSa molecules induce the aggregation of Ro. The salt strength has little effect on the CMC of Ro.

Keywords: Mesoscopic simulation, ginsenoside Ro, solubilization, critical micelle concentration

(责任编辑 李沙沙 张志华, 责任译审 王 晶)