

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00754

· 论 著 ·

姜黄素磷脂复合物的药代动力学评价

罗见春, 何丹, 尹华峰, 赵德璋, 张景勍*

重庆医科大学药物高校工程研究中心, 重庆 400016

[摘要] **目的** 通过对大鼠口服灌胃给药, 评价姜黄素磷脂复合物在 SD 大鼠体内的药物代谢动力学性质。 **方法** 制备姜黄素磷脂复合物, 以姜黄素作为对照, 检测两者在水中的溶解度和体外累计溶出率; 取 SD 大鼠 12 只, 经口服灌胃给予姜黄素磷脂复合物或姜黄素混悬液后, 不同时间点于大鼠眼底静脉丛取血, 采用高效液相色谱法(HPLC)测定血浆中姜黄素的浓度。 **结果** 姜黄素磷脂复合物的溶解度、累计溶出率分别为 0.150 g/L、68.04%, 较姜黄素(0.057 g/L、50.68%)均有所增加。姜黄素磷脂复合物和姜黄素的药代动力学参数分别如下: C_{max} 为 $(74.34 \pm 5.57) \mu\text{g/L}$ 和 $(61.64 \pm 4.29) \mu\text{g/L}$, T_{max} 为 $(0.17 \pm 0) \text{h}$ 和 $(0.25 \pm 0) \text{h}$, AUC_{0-t} 为 $(637.38 \pm 30.04) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(172.41 \pm 31.66) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ 为 $(857.80 \pm 223.69) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(191.08 \pm 43.27) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。日内及日间精密密度、回收率符合测定要求。 **结论** 姜黄素磷脂复合物混悬液与姜黄素相比吸收速度快, 消除速率慢。

[关键词] 姜黄素; 姜黄素磷脂复合物; 药代动力学; 体外溶出实验**[中图分类号]** R 969.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)07-0754-04

Pharmacokinetics evaluation of curcumin-phospholipid complex

LUO Jian-chun, HE Dan, YIN Hua-feng, ZHAO De-zhang, ZHANG Jing-qing*

Medicine Engineering Research Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the pharmacokinetics of curcumin phospholipid complex (CCPC) in rats following oral administration. **Methods** Blood samples were collected from the retinal venous plexus of SD rats after oral administration of CCPC or curcumin (CC), and the blood concentration of curcumin was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The solubility and cumulative dissolution of CCPC (0.150 g/L and 68.04%, respectively) were higher than those of CC (0.057 g/L and 50.68%, respectively). The pharmacokinetic parameter of CCPC and CC were calculated as follows: C_{max} $(74.34 \pm 5.57) \mu\text{g/L}$ and $(61.64 \pm 4.29) \mu\text{g/L}$, T_{max} $(0.17 \pm 0) \text{h}$ and $(0.25 \pm 0) \text{h}$, AUC_{0-t} $(637.38 \pm 30.04) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ and $(172.41 \pm 31.66) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, and $AUC_{0-\infty}$ $(857.80 \pm 223.69) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ and $(191.08 \pm 43.27) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The intra-day, inter-day precision, and recovery rate met the criteria for content determination. **Conclusion** Compared with curcumin, CCPC can be absorbed more rapidly and eliminated more slowly.

[Key words] curcumin; curcumin phospholipid complex; pharmacokinetics; *in vitro* dissolution test

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(7):754-757]

总姜黄素是从中药姜黄中分离出来的重要活性成分, 具有广泛的药理活性, 如抗癌、抗菌、抗病毒、抗氧化等^[1-2]。总姜黄素碱性条件下易降解, 对光、热、强酸、强碱均不稳定, 口服后大部分以原形(约 89%)排出体外, 大剂量时胃肠道不良反应严重^[3], 并且由于总姜黄素极低的水溶性和生物利用度, 其药理活性也受到限制^[4]。

总姜黄素有 3 种单体, 分别为姜黄素(curcu-

min, CC)、去甲氧基姜黄素(deme-thoxycurcumin)和双去甲氧基姜黄素(bisdeme-thoxycurcumin)。CC 是总姜黄素的主要成分, 占总姜黄素含量的 60% 以上^[5]。有文献报道, CC 在总姜黄素发挥药理作用中起着重要作用^[6]。本课题将从总姜黄素中分离出的 CC 作为考察对象, 制备成姜黄素磷脂复合物(curcumin phospholipid complex, CCPC), 建立高效液相色谱法(HPLC)研究 CCPC 口服给药在大鼠体

[收稿日期] 2013-12-24 **[接受日期]** 2014-04-21**[基金项目]** 国家自然科学基金(30973645)。Supported by National Natural Science Foundation of China (30973645)。**[作者简介]** 罗见春, 硕士生。E-mail: luojianchuner@163.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 023-68485078, E-mail: zjqrae01@163.com

内的药代动力学特征,为临床研究和新药设计提供理论基础和方法。

1 材料

1.1 仪器 FA1004A 电子天平(上海精天电子仪器有限公司);DZF-6020 型真空干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);TGL-16B 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);QL-901 涡旋仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);KQ-2200B 型超声波清洗器(民山市超声仪器有限公司);BCD-649WE 冰箱(青岛海尔股份有限公司);LC-2010AHT 高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

1.2 药品和试剂 CC(纯度>99%,自制);Lipoid S 75 (PC,德国 Lucas Meyer 公司);尼群地平(NT,纯度 99.8%,郑州栋启广利生物科技有限公司);乙腈和甲醇(色谱纯,上海国药集团化学试剂有限公司);冰醋酸(分析纯 AR,成都市科龙化工试剂厂);超纯水。

1.3 实验动物 清洁级 SD 大鼠 12 只,雄性,体重(250±20) g,由重庆医科大学实验动物中心提供。实验前未使用过任何药物。

2 方法和结果

2.1 CCPC 的制备 称取适量 CC 和 PC(质量比为 1:2),取适量无水乙醇溶解,50℃水浴中磁力搅拌 1 h。将反应液转入圆底烧瓶,减压旋转蒸发除去反应溶剂,真空干燥 2 h 得 CCPC^[7],备用。

2.1.1 CCPC、CC 在水中溶解度的测定 称取过量 CCPC、CC,分别加入超纯水形成过饱和溶液,室温 25℃搅拌 24 h。分别取 1 mL 各样品,6 375×g 离心 10 min,上清液用色谱级甲醇稀释适当倍数,待测。

测定发现 CC 的溶解度由 0.057 g/L 增加到 0.150 g/L,表明将 CC 制备 CCPC 后其溶解度增加了 2.63 倍。

2.1.2 CCPC 的体外溶出 采用《中华人民共和国药典》2010 年版二部附录 X C 第二法规定的药物体外溶出度法进行测定,溶出介质为经超声脱气的 pH 6.8 PBS,用量为 900 mL,温度为 37℃,搅拌速度为

100 转/min。CC 及 CCPC(各 3 批)投药量相同(均含 CC 5.0 mg)。分别于 15、30、45、60、90、120、240、360、480、600、720 min 时取样 2 mL,各杯中分别补充溶出介质 2 mL。各取样液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取滤液稀释数倍后 12 750×g 离心 10 min,上清液用甲醇稀释后测定。

体外溶出实验结果表明,CCPC 体外累计溶出率为 68.04%,较 CC(50.68%)有所提高。由图 1 可以看出 CCPC 改善了 CC 在 pH 6.8 PBS 液中的溶出行为,且这种改善得益于磷脂复合物这种制剂形式,提示通过制备 CCPC 能增加 CC 在肠道中的溶出,提高口服生物利用度。

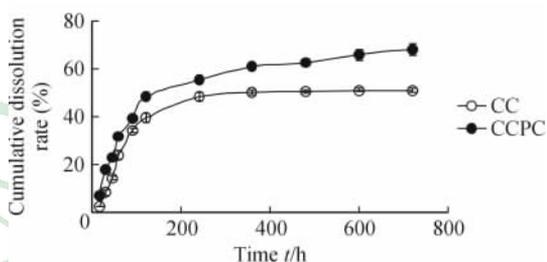


图 1 姜黄素磷脂复合物和姜黄素的累计体外溶出度

Fig 1 Cumulative dissolution of curcumin from curcumin phospholipid complex (CCPC) and curcumin (CC) in PBS (pH 6.8)

$n=3, \bar{x}\pm s$

2.2 CCPC 的药代动力学实验

2.2.1 药品的配制 取适量的 CCPC、CC,分别加入超纯水,超声得浓度约为 3.13 mg/mL 的 CCPC 及 CC 混悬液,备用。

2.2.2 动物分组及处理 12 只 SD 大鼠随机分成 2 组,禁食不禁水 12 h,第一组和第二组分别每只大鼠口服给药 CC 和 CCPC 混悬液 4 mL。在灌胃给药后 5、10、15、30、45 min,1、1.5、2、3、4、6、8、10、12 h,1、2、3 d 等时间点于眼底静脉丛取血 0.5 mL,6 375×g 离心 10 min,吸取上清液,4℃冰箱冷藏保存备用。

2.2.3 CCPC 血浆样品处理方法 (1)空白血浆的制备:大鼠眼底静脉丛取血,将所得空白血液置于涂有肝素的离心管中,6 375×g 离心 10 min,吸取上清液备用。(2)血浆样品的制备:吸取待测血浆样品 0.2 mL 于离心管,加入含 5 μg/mL NT 的内标工作液 100 μL,再加入乙酸乙酯 1.0 mL,旋涡 2 min 后,12 750×g 离心 10 min,转移上层有机相于另一离心管中,用氮气吹干仪吹干。最后用 100 μL 流动相复

溶,取 20 μL 进样测定。

2.2.4 HPLC 方法的建立 色谱条件:伊利特 C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μm);柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;流动相为乙腈:55%冰醋酸溶液=45:55(V/V),流速为 1 mL/min;紫外检测波长为 426 nm,以 NT 为内标,进样量为 20 μL 。分别精密称量 CC 10.0 mg 和内标 NT 5.0 mg 溶于甲醇溶液,配制成 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 CC 工作液和 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 NT 内标工作溶液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存,备用。

取空白血浆 0.2 mL 于 2 mL 离心管中,分别加入适量的 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 CC 对照溶液,再加入 100 μL NT 内标工作溶液,配制成浓度为 15、70、105、140、210、245 ng/mL 系列浓度的 CC 对照品溶液。按照 2.2.3 项下血浆样品的处理方法处理后,在上述色谱条件下进样测定峰面积,以 CC 和内标峰面积比(Y)对 CC 浓度(X)进行线性回归,得回归方程 $Y=0.0211X+0.0044$ ($r=0.9996$),CC 浓度在 15~245 ng/mL 浓度范围内与 CC 及内标的峰面积比呈良好线性关系。

2.2.5 方法学验证 (1)精密度试验:分别取高、中、低浓度(210、140、70 ng/mL)加有 CC 的血浆样品,按 2.2.3 项下操作方法处理后,进样分析,每个浓度测 3 次,连续测 5 d。所测得的日内精密度 RSD 分别为 1.56%、0.99%、1.21% ($n=3$);日间精密度的 RSD 分别为 0.91%、1.45%、2.01%、1.73%、1.06% ($n=5$),均符合生物样品分析方法的测定要求。(2)回收率试验:分别取浓度为 210、140、70 ng/mL 加有 CC 的血浆样品,按 2.2.3 项下操作方法处理后,进样分析。每个浓度测定 3 次,按标准曲线法计算血浆药物浓度,以所得浓度与实际浓度的比求得平均回收率为 99.31%。结果表明本测定方法回收率符合含量测定要求。(3)样品稳定性试验:配制高、中、低浓度(210、140、70 ng/mL)的 CC 血浆标准溶液各 3 份,分别 3 次冰冻、解冻,按 2.2.3 项处理并进样检测,考察其稳定性。高、中、低 3 个浓度的 RSD 分别为 2.67%、1.61%、2.07%。结果显示冻融条件对血浆样品的检测结果没有明显的影响。

2.2.6 数据分析 实验数据用 DAS-211 药代动力学软件进行分析,经拟合后各剂量组符合一室模型, T_{max} 采用实测值。图 2 为大鼠经 50 mg/mL 剂量口服给药后 CC 及 CCPC 的血药浓度-时间曲线。药代

动力学实验数据以 SPSS 17.0 统计软件进行处理,CC 及 CCPC 主要药代动力学参数见表 1,可以看出,将 CC 制备成 CCPC 后,其 AUC_{0-t} 从 $(172.41\pm 31.66) \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $(637.38\pm 30.04) \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$,提高了 3.70 倍 ($P<0.01$)。最大血药浓度从 $(61.64\pm 4.29) \mu\text{g}/\text{L}$ 增加到 $(74.34\pm 5.57) \mu\text{g}/\text{L}$,提高了 1.21 倍。

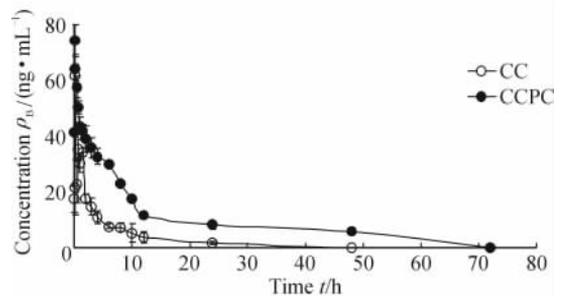


图 2 姜黄素磷脂复合物和姜黄素血药浓度-时间曲线

Fig 2 Mean concentration-time curve of curcumin phospholipid complex (CCPC) and curcumin (CC) after oral administration $n=6, \bar{x}\pm s$

表 1 姜黄素磷脂复合物和姜黄素主要药代动力学参数

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of curcumin phospholipid complex (CCPC) and curcumin (CC)

Parameter	CC	CCPC
$C_{\text{max}} \rho_{\text{B}} / (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	61.64 ± 4.29	74.34 ± 5.57
$T_{\text{max}} t/\text{h}$	0.25 ± 0.00	0.17 ± 0.00
$\text{AUC}_{0-t} / (\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	172.41 ± 31.66	$637.38\pm 30.04^{**}$
$\text{AUC}_{0-\infty} / (\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	191.08 ± 43.27	$857.80\pm 223.69^{**}$
$\text{MRT}_{0-t} t/\text{h}$	5.6 ± 0.97	14.69 ± 0.67
$\text{MRT}_{0-\infty} t/\text{h}$	8.36 ± 2.16	$34.32\pm 17.90^{**}$
$\text{CL} (\text{L}\cdot\text{h}\cdot\text{kg}^{-1})$	269.90 ± 54.66	$61.33\pm 17.62^{**}$

** $P<0.01$ vs CC group. AUC: Area under curve; MRT: Mean residence time; CL: Clearance

3 讨论

口服剂型的关键因素是其在消化道内的吸收程度与速度^[8],且胃肠道给药的药物吸收很大程度受药物溶解度的影响。对难溶性药物而言,溶出是药物吸收的限速过程。在这种情况下,药物在胃肠道内的溶出速度直接影响药物的起效时间、药效强度和作用持续时间^[9]。总姜黄素极难溶于水,CC 具有口服血药浓度低、生物利用度低等特点,其药理活性的发挥受到限制。

磷脂是生物膜的主要成分,有助于提高难溶性药物的治疗效果^[4]。以磷脂为主要材料的药物载体包括脂质体、磷脂复合物等^[10]。研究发现,中药活性成分与磷脂形成复合物后可有效提高中药活性成分的体内吸收,改善其生物利用度^[10],提高溶解度、增强吸收,延长作用时间,降低不良反应。将CC制备成CCPC,其口服吸收明显提高^[12]。

本课题将总姜黄素中的主要单体CC作为考察对象,制备了CCPC。测定发现CC的溶解度仅有0.057 g/L,而制备成CCPC后溶解度提高了2.63倍。体外溶出度实验表明,CCPC较CC在pH 6.8 PBS液中有更好的溶出行为,表明CCPC能增加CC在肠道中的溶出,提高口服生物利用度。

由药代动力学参数可知,本实验制备的CCPC的 $AUC_{0-\infty}$ 为 $(857.80 \pm 223.69) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$,相对唐勤等^[13]CCPC药代动力学研究结果 $AUC_{0-\infty}$ 为 $(442.53 \pm 91.89) \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 而言,生物利用度有很大的提高。且本实验 C_{max} 为 $(74.34 \pm 5.57) \mu\text{g}/\text{L}$,也较唐勤等^[13]得到的 C_{max} $(142.61 \pm 15.34) \text{ng}/\text{L}$ 更高。这表明本实验中的CCPC较唐勤课题组^[13]的CC有更高的血药浓度及曲线下面积,具有更好的生物利用度和临床应用前景。

CCPC提高了CC的生物利用度,延长了CC作用时间,有利于药物在体内的吸收。本实验建立了用HPLC法测定CCPC及CC血药浓度的方法,血样处理方法的萃取回收率较高,且杂质干扰较少。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 葛跃伟,高慧敏,王智民. 姜黄属药用植物研究进展[J]. 中国中药杂志,2007,32:2461-2467.
- [2] Tan Q, Wu J, Li Y, Mei H, Zhao C, Zhang J. A supramolecular curcumin for enhanced antiproliferative and proapoptotic activities: molecular characteristics, computer modeling and *in vivo* pharmacokinetics[J]. Nanotechnology,2013,24:035102.
- [3] 张继芬,唐勤,莫婷,谢小芳,徐晓玉. 姜黄素磷脂载体的表征及肠吸收研究[J]. 中国药学杂志,2012,47:1736-1740.
- [4] Maiti K, Mukherjee K, Gantait A, Saha B P, Mukherjee P K. Curcumin-phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats[J]. Int J Pharm,2007,330:155-163.
- [5] 齐莉莉,王进波. 单体姜黄素稳定性的研究[J]. 食品工业科技,2007,28:181-182.
- [6] 汪海慧,成扬. 姜黄素药理作用的研究进展[J]. 上海中医药大学学报,2007,21:73-76.
- [7] 刘安昌,赵丽霞,翟光喜,娄红祥. 姜黄素磷脂复合物的制备及其形成机制研究[J]. 中国中药杂志,2008,33:2112-2117.
- [8] 曾晓会,陈玉兴,赵自明,黄雪君,杜铁良. 姜黄素微囊在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16:107-110.
- [9] 刘建平,李高,刘中秋,孙进,何仲贵,张娜. 生物药剂学与药物动力学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,2011:29-30.
- [10] Yue G G, Cheng S W, Yu H, Xu Z S, Lee J K, Hon P M, et al. The role of turmerones on curcumin transportation and P-glycoprotein activities in intestinal Caco-2 cells[J]. J Med Food,2012,15:242-252.
- [11] 吴慧仪,龙晓英,陈莉,李志亨,潘素静. 磷脂复合物及其对中药活性成分透过生物膜的影响[J]. 中草药,2012,43:393-398.
- [12] Mazzolani F. Pilot study of oral administration of a curcumin-phospholipid formulation for treatment of central serous chorioretinopathy[J]. Clin Ophthalmol,2012,6:801-806.
- [13] 唐勤,顾勇,李纳,郭倩,徐晓玉,张继芬. 姜黄素磷脂复合物壳聚糖微球在大鼠体内药代动力学研究[J]. 中草药,2013,44:1939-1943.

[本文编辑] 尹茶