

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.01225

• 研究快报 •

去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精磷脂复合物在大鼠体内药动学研究

罗见春, 李娜, 胡雪原, 赵德璋, 张景劼*

重庆医科大学药物高校工程研究中心, 重庆 400016

[摘要] **目的** 比较去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精磷脂复合物、去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精包合物、去甲氧基姜黄素磷脂复合物、去甲氧基姜黄素原料药在大鼠体内的药代学性质, 探讨去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精磷脂复合物作为药物载体的优势。 **方法** SD大鼠灌胃给药 50 mg/mL(以去甲氧基姜黄素原料药计)剂量制剂及游离药物后, 分别于 5 min、10 min、15 min、30 min、45 min、1 h、1.5 h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、1 d、2 d、3 d 在大鼠眼底静脉丛取血。采用高效液相法测定血浆中去甲氧基姜黄素的浓度。 **结果** 去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精磷脂复合物的 $AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$) 为 $(1\,424.87 \pm 258.62)$, 较原料药去甲氧基姜黄素 (370.58 ± 2.76) 、去甲氧基姜黄素磷脂复合物 (716.17 ± 123.18) 、去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精包合物 $(1\,009.35 \pm 138.64)$ 均有提高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。 **结论** 去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精磷脂复合物较单一的磷脂复合物或羟丙基- β -环糊精包合物更能促进药物的吸收, 有利于提高药物的生物利用度。

[关键词] 去甲氧基姜黄素; 去甲氧基姜黄素羟丙基- β -环糊精磷脂复合物; 药代动力学

[中图分类号] R 285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)11-1225-04

Pharmacokinetics study of deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin phospholipid complex in rats

LUO Jian-chun, LI Na, HU Xue-yuan, ZHAO De-zhang, ZHANG Jing-qing*

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

[Abstract] **Objective** To compare the pharmacokinetics of deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin phospholipid complex, deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin, deme-thoxycurcumin phospholipid complex and deme-thoxycurcumin in rats *in vivo*, so as to discuss the advantages of hydroxypropyl- β -cyclodextrin phospholipid complex as drug carrier. **Methods** SD rats were gavaged with the preparations and free drug at 50 mg/mL (dose according to deme-thoxycurcumin). Then, blood samples were drawn from rat retinal venous plexus at 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 1 d, 2 d and 3 d. And the deme-thoxycurcumin concentrations in blood were determined by HPLC. **Results** The $AUC_{0-\infty}$ of deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin phospholipid complex was $(1\,424.87 \pm 258.62) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$, which was higher than that of deme-thoxycurcumin $(370.58 \pm 2.76) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$, deme-thoxycurcumin phospholipid complex $(716.17 \pm 123.18) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ and deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin $(1\,009.35 \pm 138.64) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$, being 3.84, 1.98, and 1.41 folds of deme-thoxycurcumin, deme-thoxycurcumin phospholipid complex and deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin, respectively ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** The deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin phospholipid complex has a better absorption property than deme-thoxycurcumin phospholipid complex and deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin, which can help to improve the bioavailability.

[Key words] deme-thoxycurcumin; deme-thoxycurcumin hydroxypropyl- β -cyclodextrin phospholipid complex; pharmacokinetics

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(11):1225-1228]

姜黄是传统的药食两用类植物姜科姜黄属植物姜黄(*Curcuma longa* L)的干燥根茎^[1-2], 目前被广泛

用作作为着色剂和食品中的香料^[3], 具破血行气、通经止痛等功效; 主治胸肋刺痛、胸痹心痛、痛经经闭、风

[收稿日期] 2015-03-04 **[接受日期]** 2015-05-22

[基金项目] 重庆市科学技术委员会资助项目(CSTC2012JJB10027). Supported by Project of Chongqing Science and Technology Committee (CSTC2012JJB10027).

[作者简介] 罗见春, 硕士生. E-mail: luojianchuner@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 023-68485161, E-mail: zjqrae01@163.com

湿肩臂疼痛、跌扑肿痛等症^[1]。近代研究表明姜黄具有抗肿瘤、抗炎、降血脂、抗纤维化等多种药理活性^[4]。但姜黄难溶于水,在碱性条件下易降解,在体内不易吸收,大剂量时胃肠道不良反应严重,且生物利用度低^[5-6]。已有人研究了其多种载体和制剂技术,如聚合物胶束、脂质体等,磷脂复合物可将姜黄的水溶性提高,但是提高的趋势并不明显^[7]。Tan 课题组通过羟丙基-β-环糊精(hydroxypropyl-β-cyclodextrin, HPCD)包合技术将姜黄素制备成姜黄素 HPCD 包合物后,其水溶性明显增加^[8]。研究表明不同载体组合形成的新载体可使新载体兼具其中各载体的优点^[7]。如将去甲氧基姜黄素磷脂复合物(DECPC)包载于 HPCD 的空穴中,形成去甲氧基姜黄素环糊精磷脂复合物(deme-thoxycurcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin phospholipid, DEPHD),就融合了磷脂(phospholipid, PC)和 HPCD 提高甲氧基姜黄素水溶性促进吸收的优点,且能更好提高甲氧基姜黄素的生物利用度。

总姜黄素含有 3 种单体,分别为姜黄素、去甲氧基姜黄素(deme-thoxycurcumin, DEM)和双去甲氧基姜黄素。研究表明,DEM 也有广泛的药理作用,甚至在某些活性方面明显高于姜黄素,显示了广泛的药用前景^[2]。但 DEM 的溶解度极低,在一定程度影响其口服吸收,有必要将 DEM 制备成一种新的剂型以改善其溶解度,提高其血浆中药物浓度和生物利用度,为 DEM 的临床研究奠定基础。

1 材料和方法

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);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);LC-2010AHT 高效液相色谱仪(日本岛津公司)。DEM(>99%,自制);Lipoid S 75 (PC,德国 Lucas Meyer 公司);乙腈、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);尼群地平(NT,99.8%,郑州栋启广利生物科技有限公司)。

1.2 实验动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体质量(250±

20) g,实验前未使用过其他药物(重庆医科大学实验动物中心提供),生产许可证号:SCXK(渝)2007-0001。

1.3 DEPHD、去氧基姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物(DEHD)、去氧基姜黄素磷脂复合物(DEPC)的制备 称取适量 DEM、PC 及 HPCD(DEM 与 PC 质量比为 1:2,DEM 与 HPCD 的摩尔比为 1:1),取适量无水乙醇溶解,50℃水浴中磁力搅拌 3 h。将反应液转入圆底烧瓶,减压旋转蒸发除去无水乙醇,真空干燥数小时除去残留无水乙醇,得 DEPHD 备用。称取适量的 HPCD 加入少量超纯水,研磨均匀,再缓慢加入一定量的 DEM(按 DEM 与 HPCD 的摩尔比 1:1),边加边研磨 1.5 h,真空干燥 2 h,研细即得 DEHD^[8],备用。称取适量 DEM 和 PC(DEM 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,减压旋转蒸发除去无水乙醇,真空干燥除去残留无水乙醇,得 DEPC^[9],备用。

1.4 DEPHD、DEHD、DEPC、DEM 在水中溶解度的测定 分别称取过量 DEPHD、DEHD、DEPC、DEM,分别加入蒸馏水形成过饱和溶液,室温(25±2)℃搅拌 24 h。分别取适量各样品,6 375×g 离心 10 min,上清液用色谱级甲醇稀释适当倍数,待测。

1.5 药品的配制 分别取适量的 DEPHD、DEHD、DEPC、DEM,分别加入蒸馏水,超声形成混悬液,备用。

1.6 血浆样品处理方法

1.6.1 空白血浆的制备 从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。

1.6.2 血浆样品的制备 分别吸取待测血浆样品于离心管,加入按 1.8 项下方法配制的 NT 内标液,再加入乙酸乙酯,适当漩涡后离心,转移上层(有机相)于另一离心管中,用氮气吹干仪吹干。最后用流动相复溶,取复溶液进样测定。

1.7 色谱条件 色谱柱为伊利特 C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温为 30℃;流动相为乙腈:5%冰醋酸溶液=43:57(V/V),流速为 1 mL·min⁻¹;检测波长为 420 nm,以 NT 为内标,进样量为 20 μL。

1.8 标准曲线的制备 精密称量 DEM 10.0 mg 溶于色谱级甲醇溶液,配制成 0.5 μg·mL⁻¹的 DEM 对照品溶液,于 4℃冰箱中保存,备用。

精密称量 NT 5.0 mg 溶于色谱级甲醇溶液,配制成 5 μg·mL⁻¹的 NT 内标工作溶液,于 4℃冰箱

中保存, 备用。

取 0.2 mL 小鼠空白血浆, 配制成质量浓度分别为 15、70、105、140、210、245 ng/mL 的系列 DEM 血浆溶液。按血液样品的处理方法进行处理测定, 对数据进行分析, 以 DEM 和内标峰面积之比(Y)对 DEM 浓度(X)做线性回归, 得回归方程 $Y=0.0129X+0.1399$ ($r=0.9998$), DEM 浓度在 15~245 ng/mL 浓度范围内与 DEM 和内标的峰面积比呈良好线性关系。

1.9 大鼠分组和给药 取 SD 大鼠 24 只随机分成 4 组并标号, 禁食不禁水 12 h, 每组大鼠分别灌胃给药 DEPHD、DEHD、DEPC、DEM。在灌胃给药后分别于 5 min、10 min、15 min、30 min、45 min、1 h、1.5 h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、1 d、2 d、3 d 在大鼠眼底静脉丛取血 0.5 mL, $6375 \times g$ 离心 10 min, 吸取上清液, 4℃ 冰箱冷藏保存, 供测定血药浓度用。

1.10 分析方法学考察

1.10.1 精密度 分别取高、中、低浓度(质量浓度分别为 210、140、70 ng/mL)的加有 DEM 的血浆样品, 按 1.6.2 项下操作方法处理后, 进样连续测定 5 d。所测得的日内精密度 RSD 分别为 1.78%、1.99%、1.69% ($n=3$); 日间精密度的 RSD 分别为 1.96%、2.44%、2.11%、1.83%、0.96% ($n=5$)。符合生物样品分析方法的测定要求。

1.10.2 回收率 分别取质量浓度为 210、140、70 ng/mL 的 DEM 血浆样品, 按 1.6.2 项下操作方法处理后, 进样测定, 根据标准曲线求出各样品的浓度, 计算样品的相对回收率。得到平均回收率为 99.55%, RSD 为 2.13% ($n=3$)。表明本测定方法具有良好的回收率, 符合含量测定方法要求。

1.10.3 处理后样品室温稳定性 分别取加有

DEM 制备成质量浓度分别为 210、140、70 ng/mL 的血浆样品, 按 1.6.2 项下操作方法处理后, 将处理后血浆样品溶液在室温中放置, 分别于 0、2、4、8、12 h 时测定 DEM 的含量。结果表明各时间点测定浓度与 0 h 时没有明显差异, 表明 DEM 血浆样品经处理后, 室温 12 h 内稳定。

1.10.4 血浆样品冻存稳定性 配制高、中、低浓度(质量浓度分别为 210、140、70 ng/mL)的加有 DEM 的血浆样品, 分别 3 次冰冻解冻, 按 1.6.2 项处理并进样检测, 考察其稳定性。高、中、低 3 个浓度 RSD 分别为 2.21%、2.66%、1.87% ($n=3$)。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。

1.11 统计学处理 药代实验数据通过 SPSS 17.0 社会科学统计软件包进行处理。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 溶解度的测定结果 DEPHD 的溶解度为 $(1.680 \pm 0.007) g \cdot L^{-1}$, 其较 DEM 溶解度 $(0.037 \pm 0.180) g \cdot L^{-1}$ 增加了约 45 倍, 而通过研磨法制备得到的 DEHD 溶解度为 $(2.300 \pm 0.100) g \cdot L^{-1}$, 较 DEM 有明显增加。

2.2 药动学研究 经拟合后各剂量组符合一室模型。表 1 给出了 DEM 及 DEPHD 主要药代参数, T_{max} 和 C_{max} 采用实测值。将 DEM 制备成 DEPHD 后, 其 $AUC_{0-\infty}$ 从 $(370.58 \pm 2.76) \mu g \cdot L^{-1} \cdot h$ 增加到 $(1424.87 \pm 258.62) \mu g \cdot L^{-1} \cdot h$ 。将 DEM 制备成 DEPHD, 其消除半衰期是游离药物的 2 倍有余, 而游离药物 DEM 的清除率约是 DEPHD 的 4 倍。图 1 为 大鼠 50 mg/mL 剂量口服给药后 DEPHD、DEHD、DEM 的血药浓度-时间曲线。

表 1 DEPHD、DEHD、DEM 的主要药代参数

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of DEPHD, DEHD and DEM

$n=6, \bar{x} \pm s$

Parameter	DEPHD	DEHD	DEM
$AUC_{0-t} (\mu g \cdot L^{-1} \cdot h)$	$1307.33 \pm 123.51^{**\Delta\Delta}$	$856.94 \pm 96.36^{**}$	354.49 ± 10.92
$AUC_{0-\infty} (\mu g \cdot L^{-1} \cdot h)$	$1424.87 \pm 258.62^{**\Delta}$	$1009.35 \pm 138.64^{**}$	370.58 ± 2.76
$T_{max} t/h$	0.25 ± 0	0.17 ± 0	0.50 ± 0
$C_{max} \rho_B / (\mu g \cdot L^{-1})$	$160.20 \pm 6.42^*$	103.05 ± 3.45	109.09 ± 8.94
$t_{1/2} t/h$	$12.95 \pm 6.02^{**}$	$19.67 \pm 0.37^*$	5.47 ± 1.26
$CL (L \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1})$	$35.86 \pm 6.29^{**}$	$50.18 \pm 7.09^{**}$	134.92 ± 1.01

AUC: Area under curve; T_{max} : Peak time; C_{max} : Peak concentration; $t_{1/2}$: Half life; CL: Clearance; DEPHD: Deme-thoxycurcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin phospholipid; DEHD: Deme-thoxycurcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin; DEM: Deme-thoxycurcumin. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs DEM group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs DEHD group

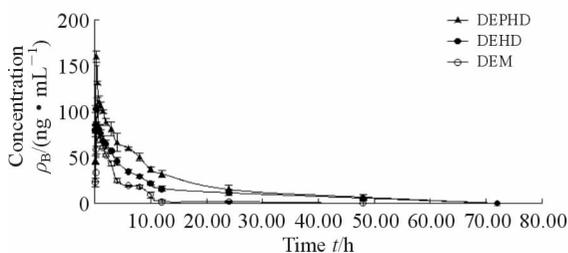


图1 DEPHD、DEHD、DEM 血药浓度-时间曲线

Fig 1 Mean concentration-time curve of DEPHD, DEHD, DEM

DEPHD: Deme-thoxycurcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin phospholipid; DEHD: Deme-thoxycurcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin; DEM: Deme-thoxycurcumin. $n=6, \bar{x} \pm s$

3 讨论

PC是生物膜的主要成分,有助于提高难溶性药物的治疗效果^[9]。DEM的酚羟基可与磷脂的P=O以共价键结合,其磷脂部分能促进DEM更好地转移至肠上皮细胞膜^[7]。HPCD是高亲水性的β-环糊精类衍生物,被认为是最具有临床研究价值的环糊精类物质,并且是美国食品药品监督管理局批准的可用于注射给药的药用辅料^[8]。β-CD环糊精具有疏水的内腔和亲水的表面^[10],PC分子的脂肪酰基碳氢链可包入β-CD分子的空穴中^[11],依据范德华力作用和疏水作用力等发生包结作用,生成稳定的化合物。本实验结合磷脂复合技术和环糊精包合技术,将单体DEM制备成DEPHD,其溶解性能有了明显改善;同时由于磷脂的存在,DEM与PC形成DEPC,能促进DEM更好地从亲水环境转移至亲脂环境,有效提高DEM通过口服给药途径的体内吸收,显著改善其生物利用度^[12],并延长了其作用时间,有利于药物在体内的吸收。

[参考文献]

[1] 贾淑杰,刘庆焕,王文彤,王 露. 姜黄素、去甲氧基姜黄素和二去甲氧基姜黄素对照品的制备及姜黄素细胞毒性初步研究[J]. 中草药, 2012, 43: 1118-1121.
 [2] 农克良,韦良兴,慕光杉,农容丰,石 郦. 姜黄色素的简易提取与柱色谱分离研究[J]. 化工技术与开发, 2006, 3: 3-5.

[3] 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.
 [4] Jeon Y, Kim C E, Jung D, Kwak K, Park S, Lim D, et al. Curcumin could prevent the development of chronic neuropathic pain in rats with peripheral nerve injury[J]. Curr Ther Res Clin Exp, 2013, 74: 1-4.
 [5] Zhang W, Bai W, Zhang W. MiR-21 suppresses the anticancer activities of curcumin by targeting *PTEN* gene in human non-small cell lung cancer A549 cells [J]. Clin Transl Oncol, 2014, 16: 708-713.
 [6] 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.
 [7] 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动学研究 [J]. 中草药, 2013, 44: 1939-1943.
 [8] Tan Q, Wu J, Li Y, Mei H, Zhao C, Zhang J. A supermolecular curcumin for enhanced antiproliferative and proapoptotic activities; molecular characteristics, computer modeling and *in vivo* pharmacokinetics [J]. Nanotechnology, 2013, 24: 035102.
 [9] 罗见春,何 丹,尹华峰,赵德璋,张景勍. 姜黄素磷脂复合物的药代动力学评价[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35: 754-757.
 Luo J C, He D, Yin H F, Zhao D Z, Zhang J Q. Pharmacokinetics evaluation of curcumin-phospholipid complex[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35: 754-757.
 [10] 李振龙. 分子动力学模拟及自由能计算在环糊精水化及与磷脂分子包结作用中的应用研究[D]. 中国科学技术大学, 2005.
 [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] 罗见春,胡雪原,王 红,张永红,张景勍. 脱甲氧基姜黄素磷脂复合物药代动力学研究[J]. 中药材, 2014, 37: 143-146.

[本文编辑] 尹 茶