

· 药物代谢 ·

姜黄素微囊在大鼠体内的药代动力学研究

曾晓会*, 陈玉兴, 赵自明, 黄雪君, 杜铁良

(广东省中医研究所, 广东 广州 510095)

[摘要] 目的:研究姜黄素微囊在大鼠体内的药代动力学过程。方法:采用口服给药,进行颈动脉插管,分别于药后0.08,0.25,0.5,0.75,1,2,3,4,5.5 h 采血,用HPLC进行检测。结果:姜黄素微囊各剂量的药时曲线呈双峰现象;各剂量组的 C_{max_1} 和 C_{max_2} 分别为:高剂量(0.90 mg/L和1.20 mg/L)、中剂量(0.43 mg/L和0.46 mg/L)、低剂量(3.16 mg/L和1.31 mg/L);姜黄素微囊高、中、低3个剂量AUC分别为3.79,2.60,5.92 mg·h/L,低剂量比高中剂量的 C_{max} 和AUC都大。结论:姜黄素微囊在大鼠体内的药代动力学呈非线性过程,可能存在肠肝循环现象。

[关键词] 姜黄素微囊;药代动力学;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0107-04

Pharmacokinetics of Curcumin Microcystin in Rats

ZENG Xiao-hui*, CHEN Yu-xing, ZHAO Zi-ming, HUANG Xue-jun, DU Tie-liang

(Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To study the pharmacokinetics of curcumin microcystin in rats. **Methods:** The microcystin was orally administrated. After carotid artery cannulation, blood samples were collected after administration of 0.08, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 5.5 h, and tested by HPLC. **Results:** The various doses of curcumin concentration-time curve is bimodal; C_{max_1} and C_{max_2} of each dose group are as follows: high-dose(0.90, 1.20 mg/L), medium dose(0.43, 0.46 mg/L), low dose(3.16, 1.31 mg/L); AUC are 3.79, 2.60, 5.92 mg·h/L respectively. C_{max} and AUC of low dose are greater than that of the high and medium doses. **Conclusion:** The Pharmacokinetics of curcumin were nonlinear process in rat, there may be the phenomenon of enterohepatic circulation.

[Key words] Curcumin Microcystin; pharmacokinetics; rat

姜黄是一种天然药材,为姜科植物 *Curcuma longa* L. 的根茎,其主要有效成分为姜黄素。由于其药理作用具有靶点多、疗效确切和安全性高等优势,使得姜黄素的开发极具潜力与价值,因此受到国内外的广泛关注^[1]。但姜黄素因为水溶解度低、吸收差、生物利用度极低,代谢快、易转化为其他代谢产物,

不宜注射给药等制约了相关药物的开发^[2]。要提高药效就必须提高血药浓度,而剂型改造是提高难溶性药物生物利用度很好的途径。鉴于姜黄素不宜开发为注射剂,口服给药以其相对安全、方便,易被患者接受的特点,使得口服制剂是姜黄素新药开发的首选剂型。因此我们采用微囊化技术,将其制成口服微囊制剂。前期工作已表明微囊工艺增强了姜黄素的稳定性,促进了其在体液中的溶出,那么通过微囊新工艺是否提高了姜黄素在动物体内的血药浓度和生物利用度,其在动物体内的药代动力学过程究竟如何,是本研究主要探讨的问题。

[收稿日期] 2009-06-19

[基金项目] 广东省科技厅火炬计划项目(2005A30101016)

[通讯作者] *曾晓会, Tel: (020) 83576735; E-mail: simao37@163.com

材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国惠普公司);SIGMA 冷冻高速离心机;Sartorius BP211D 电子分析天平(德国);TDL-5-A 离心机(上海安亭科学仪器有限公司);HSC-12A 氮吹仪(南京科捷分析仪器有限公司)。

1.2 试剂 姜黄素(购于四川金郁金科技发展有限公司,纯度 98%);甲醇、乙腈(色谱纯);其他试剂为分析纯。

1.3 动物 SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体重 180 ~ 220 g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2003-0002。动物饲养环境:广东省中医研究所 SPF 级实验室,实验动物使用许可证号:SCXK(粤)2005-0059,温度 20 ~ 25 °C,湿度 60% ~ 70%,SPF 级大鼠饲料,饮用无菌水。

2 测定方法

2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-5% 冰醋酸(45:55, V/V);流速:1 mL · min⁻¹;柱温:30 °C;检测波长:428nm;进样量:10 μL。理论塔板数不低于 2 000。

2.2 血浆供试品的制备 分别精密吸取 125 μL 血浆供试品,加入乙酸乙酯 500 μL,漩涡振荡 2 min, 10 000 r · min⁻¹离心 5 min,取离心后的上清液 350 μL 转移至另一离心管中。残渣精密加入 500 μL 乙酸乙酯同法萃取一次,合并上清液,于 60 °C 氮气吹干仪中挥干,残渣加 100 μL 甲醇使溶解,备用。

2.3 标准曲线的制备 吸取大鼠空白血浆各 125 μL,分别加入适量姜黄素按“2.2”方法制备浓度为 1047.80, 2102.40, 5252.70, 10505.00 μg · L⁻¹的姜黄素标准溶液,分别吸取 10 μL 进样,以姜黄素标准溶液浓度(X)为横坐标,姜黄素色谱峰面积(Y)为纵坐标,进行线性回归。

2.4 精密度实验 精密吸取 2 102.40 μg · L⁻¹的姜黄素标准品溶液 10 μL 进样,重复测定其峰面积 6 次。

2.5 稳定性实验 取已知含量的血浆供试品,按“2.2”方法制备供试品溶液,精密吸取血浆供试品溶液 10 μL 进样,在 0, 1, 3, 6, 9, 12 h, 分别测定其峰面积。

2.6 回收率实验 取已知含量的血浆供试品,分别精密加入一定量的姜黄素标准品,混匀,按“2.2”方

法制备供试品溶液,测定姜黄素的含量。

3 实验方案

选取成年健康雄性大鼠 15 只,随机分为姜黄素高剂量(937.5 mg · kg⁻¹)、中剂量(234.4 mg · kg⁻¹)和低剂量(58.6 mg · kg⁻¹)3 个组,每组 5 只。ig 给药后立即用乌拉坦麻醉,颈部纵切 2 cm,分离颈动脉,先结扎远心端,近心端暂不结扎,用眼科剪剪开血管,进行插管,然后结扎。分别于药后 0.08, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 5.5 h 进行采血,每次采血 0.3 ~ 0.5 mL,置于肝素化试管中,离心并分离血浆, -80 °C 冰箱保存。

4 结果

4.1 标准曲线 回归方程为: $Y = 0.0293X - 20.436$, $r = 0.9927$ 。表明姜黄素在 1 047.80 ~ 10 505.00 μg · L⁻¹之间线性关系良好。

4.2 精密度实验 精密度实验结果为 RSD = 1.75%, 见表 1。

表 1 血浆中姜黄素精密度实验结果

测定次数	姜黄素峰面积	RSD(%)
1	34.04	
2	33.45	
3	33.82	
4	32.51	1.75
5	33.23	
6	34.02	

4.3 稳定性实验 稳定性实验结果为 RSD = 1.14%, 见表 2。

表 2 血浆中姜黄素稳定性实验结果

时间(h)	姜黄素峰面积	RSD(%)
0	10.65	
1	10.64	
3	10.58	
6	10.46	1.14
9	10.40	
12	10.38	

4.4 回收率实验 加样回收率为 99.02%, RSD = 0.26%, 见表 3。

4.5 药动学参数 实验数据用 DAS 2.1 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} 和 C_{max} 采用实测值, AUC 根据梯形法进行计算。由图 1 可以看出,姜黄素各剂量组的药时曲线均呈双峰现象。由表 4 药动学参数结果可以看出,

各剂量组的 T_{max_1} 和 T_{max_2} 实测值分别为:高剂量(0.75 和 2 h)、中剂量(0.5 和 1 h)、低剂量(0.75 和 2 h);各剂量组的 C_{max_1} 和 C_{max_2} 分别为:高剂量(0.90 和 $1.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$);中剂量(0.43 和 0.46 mg

$\cdot \text{L}^{-1}$);低剂量(3.16 和 $1.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$);高、中、低剂量的 AUC 分别为(3.79, 2.60, $6.94 \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$)。

表 3 血浆中姜黄素加样回收率结果

序号	血浆供试品的量 (mL)	供试品中姜黄素的含量(μg)	加入姜黄素的量 (μg)	测得姜黄素的量 (μg)	加样回收率 (%)	平均加样回收率(%)	RSD (%)
1	0.050 0	0.060 7	0.061 0	0.121 0	98.852 5		
2	0.050 0	0.060 7	0.061 0	0.120 8	98.525 0		
3	0.050 0	0.060 7	0.061 0	0.121 1	99.016 4		
4	0.062 5	0.075 9	0.076 2	0.151 5	99.212 6		
5	0.062 5	0.075 9	0.076 2	0.151 2	98.818 9	99.024 9	0.257 9
6	0.062 50	0.075 90	0.076 20	0.151 40	99.081 4		
7	0.075 00	0.091 10	0.092 00	0.182 50	99.347 8		
8	0.075 00	0.091 10	0.092 00	0.182 30	99.130 4		
9	0.075 00	0.091 10	0.092 00	0.182 40	99.239 1		

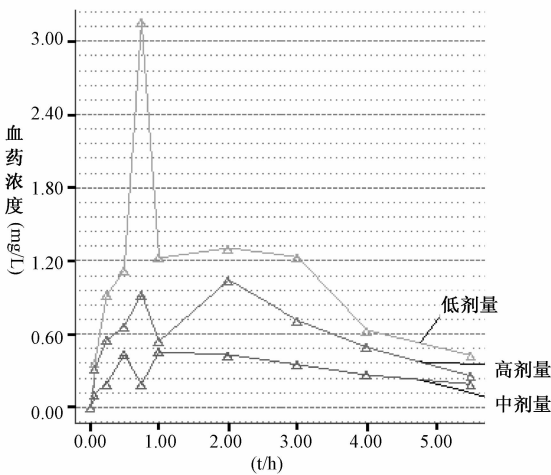


图 1 大鼠 ig 姜黄素各剂量药时曲线图

表 4 大鼠 ig 姜黄素血浆参数分析结果($\bar{x} \pm s$)

参数	单位	姜黄素剂量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
		937.5	234.4	58.6
t_{max}	h	1.5	1.1	0.75
C_{max}	mg/L	1.158	0.546	3.155
$MRT(0 \sim \infty)$	h	2.912	5.186	3.208
$VRT(0 \sim \infty)$	h ²	4.448	24.536	8.284
$AUC(0 \sim \infty)$	$\text{mg} \cdot \text{h}/\text{L}$	3.787	2.604	6.942
$t_{1/2\beta}$	h	1.18	4.48	2.232
$t_{1/2\alpha}$	h	0.75	0.6	0.322
K_a	1/h	0.944	1.463	2.34
CL/F	$\text{L}/\text{h}/\text{kg}$	393.87	97.39	9.47
V_z/F	L/kg	614.54	470.12	27.78

5 讨论

对口服剂型而言,起效的关键因素是它在消化道内的吸收程度与速度,因此探索姜黄素在体内的代谢规律具有重要的理论和实际意义。文献研究提示^[3],姜黄素口服后血药浓度低、生物利用度不高,只有极少以原形吸收入血,绝大部分药物以原形排出胃肠道;Ireson 等^[4]报道大鼠灌胃 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 姜黄素后,各时间点的姜黄素浓度处在检出限水平附近。

本研究实验结果表明,本实验所采用的 HPLC 分析方法条件可靠,杂质干扰小,分离性能高,符合生物样品分析方法的基本要求^[5]。姜黄素各剂量的药时曲线均呈现双峰,与文献报道相符^[6],可能是因为姜黄素在大鼠体内的药代动力学过程存在肠肝循环现象,也可能是姜黄素快速分布至其他脏器后再次吸收入血,形成第二个峰所致,尚需实验进一步证实。姜黄素各剂量组的 C_{max} 没有随着剂量的增加而增加,提示姜黄素在大鼠体内的药代动力学符合非线性过程。其中低剂量组的 T_{max} 比中、高剂量组的 T_{max} 小,但低剂量的 C_{max} 和 AUC 是 3 个剂量组中最高的,可能是高剂量接近最大耐受量,而低剂量最接近临床拟用量,容易吸收入血所致。文献报道^[6]姜黄素混悬液和姜黄素脂质体以 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃后血药峰浓度分别为 0.46 和 $0.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, AUC 分别为 0.78 和 $0.7 \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本室制备的姜黄素微囊制剂低剂量以 $58.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药,

将姜黄素的峰浓度提高到 $2.66 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 分别是姜黄素混悬液和脂质体的 5.78 和 5.02 倍。姜黄素微囊的 AUC 提高到 $5.92 \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, 分别为姜黄素混悬液和脂质体的 7.6 倍和 8.4 倍。说明经过工艺改进后姜黄素的血药浓度和生物利用度有明显提高, 通过开展本研究, 可望为其新制剂的设计和临床合理用药提供参考。

[参考文献]

- [1] 温彩霞, 丁延辉, 许建华, 等. 姜姜黄素注射液在小鼠体内的药代动力学[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(6):19.
- [2] 王 政, 惠伯棣, 裴凌鹏, 等. 大鼠体内类姜黄素的组

成变化[J]. 食品科学, 2007, 28(9):542.

- [3] Ravindranath V, Chandrasekhara N. Absorption and tissue distribution of curcumin in rats [J]. Toxicology, 1980, 16(3):259.
- [4] Ireson CR, Jones DJL, Orr S. Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine [J]. Cancer Epidem Biomar Prevent, 2002, (11):97.
- [5] 郑筱萸. 化学药品和治疗用生物制品研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002:51.
- [6] 许汉林, 孙 芸, 邵继征, 等. 姜黄素脂质体在大鼠体内药代动力学研究[J]. 湖北中医学院学报, 2007, 9(1):42.