

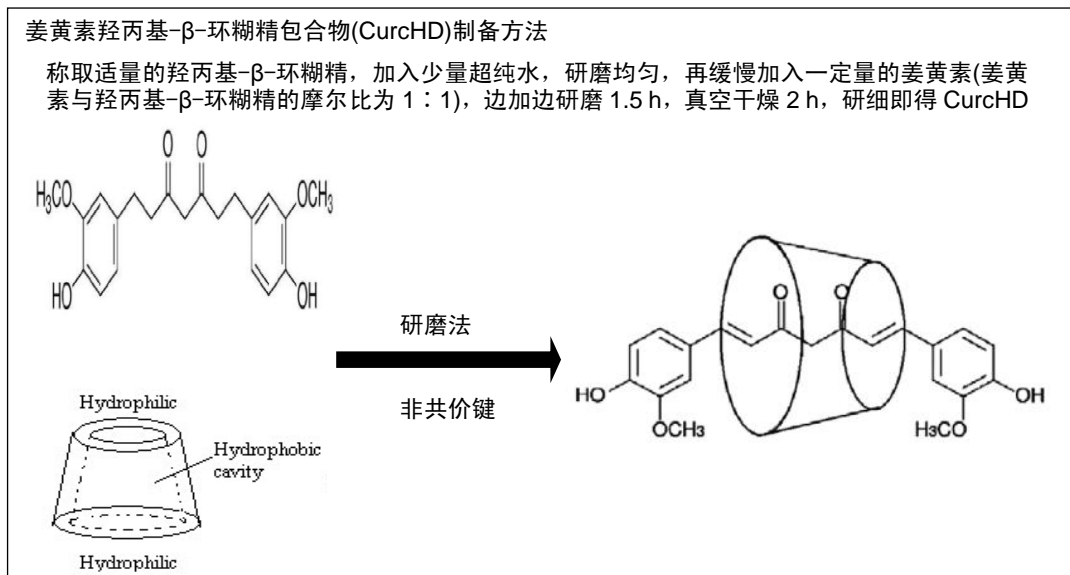
# 单向灌流法研究姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物的大鼠在体肠吸收

罗见春<sup>1</sup>, 郭 琦<sup>2</sup>, 张 敏<sup>1</sup>, 钟 萌<sup>3</sup>, 万胜利<sup>3</sup>, 张景劼<sup>1</sup> (1重庆医科大学药物高校工程研究中心, 重庆市 400016; 2重庆市药品技术审评认证中心, 重庆市 401120; 3西南医科大学附属医院药剂科, 四川省泸州市 646009)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1539

ORCID: 0000-0003-0205-3029(罗见春)

文章快速阅读:



罗见春, 女, 1989 年生, 四川省遂宁市人, 主要从事新剂型新技术研究。

通讯作者: 张景劼, 教授, 博士生导师, 重庆医科大学药物高校工程研究中心, 重庆市 400016

文献标识码: B

稿件接受: 2018-09-22



文题释义:

**姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物:** 羟丙基-β-环糊精具有“内疏水、外亲水”的特殊立体环状结构; 环糊精通过非共价键形式将难溶性药物姜黄素包合进其疏水空腔, 既能提高姜黄素的水溶性, 也能在一定程度上改善姜黄素见光易降解的特性。

**单向灌流在体肠吸收:** 单向灌流法以较低的灌流速度(实验研究的流速为 0.2 mL/min)对大鼠某一肠段进行单向灌流, 实验条件接近动物体内肠道环境[Krebs-Ringer 循环液温度为(37±2) °C]; 体内肠吸收实验既能保证实验动物血液和淋巴液的供应, 也能提高实验动物各肠段的生物活性。

摘要

**背景:** 姜黄素具有良好的抗癌、抗炎等药理作用, 但水溶性极低, 影响了其药理活性的发挥。

**目的:** 观察姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物及姜黄素在体肠吸收情况。

**方法:** 采用研磨法制备姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物; 检测姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物与姜黄素的溶解度。取 12 只雄性 SD 大鼠, 建立在体肠段单向灌流模型(每只大鼠选取十二指肠、空肠、回肠及结肠 4 个肠段), 随机分 2 组进行药物灌流, 实验组灌流姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物水溶液, 对照组灌流姜黄素混悬液, 收集各肠段的灌流药液, 采用紫外可见分光光度法测定姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物及姜黄素在大鼠体内各肠段的吸收速率常数( $K_a$ )和有效渗透率( $P_{app}$ )。

**结果与结论:** 姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物在水中的溶解度较姜黄素提高了 33.68 倍; 姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物的吸收速率常数  $K_a$  结果为: 十二指肠>回肠>空肠>结肠, 有效渗透率  $P_{app}$  结果为: 结肠>十二指肠>回肠>空肠, 并且姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物在大鼠各肠段的吸收较姜黄素明显提高( $P < 0.05$ ); 结果表明, 姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物能够明显改善姜黄素在大鼠肠内的吸收情况。

**关键词:**

姜黄素; 姜黄素羟丙基-β-环糊精; 体内肠吸收; 紫外可见分光光度法; 环糊精包合物; 吸收速率

**主题词:**

姜黄素; β 环糊精类; 肠吸收; 组织工程

中图分类号: R459.9; R318.08

**基金资助:**

重庆市科委项目(cstc2017shmsA0174), 项目负责人: 张景劼

**缩略语:**

姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物: Curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin, CurcHD

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

Corresponding author: Zhang Jingjie, Professor, Doctoral supervisor, Medicine Engineering Research Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

## Intestinal absorption characteristics of curcumin hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in rats: an analysis using one-way perfusion method

Luo Jianchun<sup>1</sup>, Guo Qi<sup>2</sup>, Zhang Min<sup>1</sup>, Zhong Meng<sup>3</sup>, Wan Shengli<sup>3</sup>, Zhang Jingqing<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Medicine Engineering Research Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; <sup>2</sup>Center for Certification and Evaluation, Chongqing Food and Drug Administration, Chongqing 401120, China; <sup>3</sup>Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646009, Sichuan Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Curcumin has good anticancer and anti-inflammatory effects, but which is limited for the low solubility.

**OBJECTIVE:** To investigate the intestinal absorption characteristics of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin and curcumin in rats.

**METHODS:** The curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin was prepared by grinding method, and the solubility of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin and curcumin was detected. Twelve male Sprague-Dawley rats were used to establish a one-way perfusion model of intestinal segment (duodenum, jejunum, ileum and colon), and randomly divided into two groups. The experimental group was given curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin, and the control group was perfused with curcumin suspension. The absorption rate ( $K_a$ ) and effective permeability ( $P_{app}$ ) of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin and curcumin at each intestinal segment were measured by ultraviolet-visible spectrophotometry.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The solubility of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water was increased by 33.68 times compared with that of curcumin. The absorption rate constant ( $K_a$ ) of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin was ranked as follows: duodenum > ileum > jejunum > colon, and the effective permeability ( $P_{app}$ ) was ranked as follows: colon > duodenum > ileum > jejunum, and the absorption in the intestines was significantly higher than that of curcumin ( $P < 0.05$ ). In summary, curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin can obviously improve the absorption of curcumin in the intestines of rats.

**Subject headings:** Curcumin; beta-Cyclodextrins; Intestinal Absorption; Tissue Engineering

**Funding:** the Project of Chongqing Science & Technology Commission, No. cstc2017shmsA0174 (to ZJQ)

## 0 引言 Introduction

姜黄色素是从姜科、天南星科植物中提取的多酚化合物,是姜黄干燥根茎的主要有效成分,是一种具有抑制肿瘤细胞转化、增殖和转移的多效性分子<sup>[1-2]</sup>,在阿尔茨海默症防治中具有一定的理论意义<sup>[3-4]</sup>,还有助于治疗耐药结核病<sup>[5]</sup>。此外,姜黄色素具有降血脂、抗肿瘤、抗炎、利胆、促进伤口愈合等,具有多重生物活性和药理活性。姜黄消瘿搽剂临床上还用于清热祛湿、活血消瘿。已注册的姜黄色素相关临床研究多达99个,多数涉及抗肿瘤(胰腺癌、直肠癌、乳腺癌、多发性骨髓瘤等)和抗炎(老年痴呆、肠炎、胰腺炎、风湿性关节炎等)<sup>[6]</sup>,在亚洲传统医学中被广泛用于治疗黄疸及其他肝功能紊乱等疾病<sup>[7]</sup>。但是具有多酚结构的姜黄色素,在光、热、强酸、强碱性环境不稳定,易发生降解作用<sup>[8]</sup>。姜黄色素的药理活性也因其极低的水溶性受到了很大限制<sup>[9]</sup>。

姜黄色素由姜黄素(80%)、去甲氧基姜黄素(12%)、双去甲氧基姜黄素(2%)3种单体组成<sup>[10]</sup>。姜黄色素类的3种单体化合物因结构相近而药理作用大致相似,但苯环上甲氧基数目不同,使得3种单体化合物在抗氧化抗癌等药理作用方面存在较大差异,如抑制植物血凝素A引起的癌细胞增生效果最佳的是去甲氧基姜黄素,其次为姜黄素<sup>[11]</sup>。市售姜黄色素通常为姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素的混合物,结构上的微小差异使3者发挥药理作用方面的能力存在较大差异。

欲开发高效的姜黄素新制剂,改善其水溶性差,适应临床需求,需解决姜黄素溶解度低、稳定性差的问题。环糊精在食品工业作为食品添加剂发展很快,也在药剂学上得到了广泛研究:①可增强易氧化、水解药物的稳定性,延长药物效力和保存期;②环糊精包合物相当于分子胶囊,

药物分子被分离而分散于低聚糖骨架中,增加药物溶解度和溶出速率;③掩盖药物的不良臭味,降低刺激性;④提高药物的生物利用度;⑤提高在制剂过程中或在投药部位的稳定性;⑥液体药物的粉末化或减少挥发性,同时还具有缓释作用。

课题将单体姜黄素作为研究对象,将环糊精作为载体,通过研磨法将姜黄素包合于羟丙基-β-环糊精空穴中,得到姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物(Curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin, CurcHD),采用紫外可见分光光度法测定在体肠单向灌注实验中CurcHD于大鼠各肠段的吸收情况,为其临床研究提供理论基础和方法。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 探索性研究。

1.2 时间及地点 实验于2017年7月至2018年5月在重庆高校药物工程研究中心完成。

1.3 材料

**实验动物:** 清洁级雄性SD大鼠,体质量(250±20)g,由重庆医科大学实验动物中心提供,许可证号: CQLA-2012-1003。

**实验主要药物与试剂:** 姜黄色素(> 99%,西安帅诺生物科技有限公司);姜黄素(> 99%,自制);羟丙基-β-环糊精(江苏泰兴新鑫医药辅料有限公司);羧甲基纤维素钠(上海时代生物科技有限公司);Krebs-Ringer 缓冲液<sup>[12]</sup>(1 000 mL Krebs-Ringer 缓冲液内含7.80 g氯化钠、0.35 g氯化钾、0.37 g氯化钙、1.37 g碳酸氢钠、0.32 g磷酸二氢钠、20 mg氯化镁、1.40 g葡萄糖,通过HCl、NaOH调节pH值为6.5);其余试剂为分析纯。

**实验主要仪器:** DZF-6020型真空干燥箱(上海博迅实

业有限公司医疗设备厂); HL-1恒流泵(上海青浦沪西仪器厂); KQ-2200B型超声波清洗器(民山市超声仪器有限公司); UV-7504型紫外可见分光光度仪(上海精密科学仪器有限公司); FA1004A电子天平(上海精天电子仪器有限公司); BCD-649WE冰箱(青岛海尔股份有限公司)。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 CurcHD的制备方法<sup>[13]</sup>** 采用研磨法制备得到CurcHD。称取适量的羟丙基- $\beta$ -环糊精,加入少量超纯水,研磨均匀,再缓慢加入一定量的姜黄素(姜黄素与羟丙基- $\beta$ -环糊精的摩尔比1:1),边加边研磨1.5 h,真空干燥2 h,研细即得CurcHD,备用。

**1.4.2 姜黄素液的制备** 精密称取一定量的姜黄素,置于干燥洁净反应瓶内,适量无水乙醇助溶,加入适量0.5%羧甲基纤维素钠溶液,超声使姜黄素混匀分散,得到淡黄色姜黄素混悬液。

**1.4.3 紫外可见分光光度法确定波长** 将一定浓度的姜黄素乙醇液、羟丙基- $\beta$ -环糊精乙醇液,无水乙醇为空白,在200-800 nm范围内全波段扫描,扫描得姜黄素在426 nm处有最大吸收波长,且在426 nm波长处羟丙基- $\beta$ -环糊精乙醇液无吸收,见图1和图2。以426 nm为姜黄素最大吸收波长。

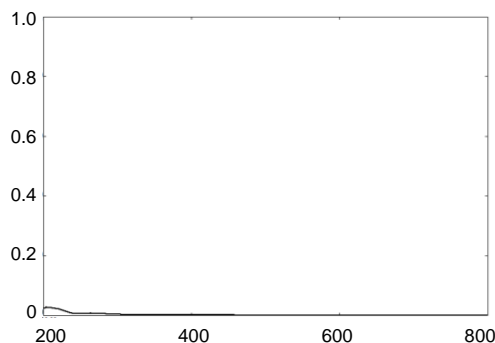


图1 羟丙基- $\beta$ -环糊精紫外扫描图  
Figure 1 Ultraviolet-visible spectrophotometry of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin

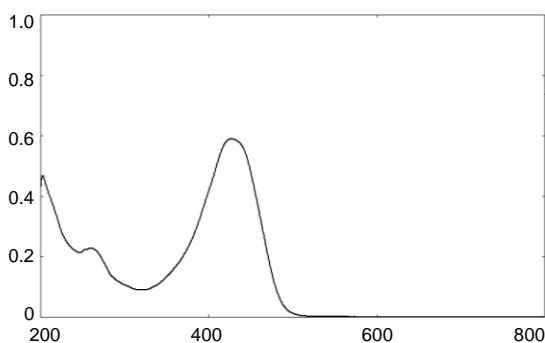


图2 姜黄素紫外扫描图  
Figure 2 Ultraviolet-visible spectrophotometry of curcumin

**对照品溶液的制备:** 精密称取姜黄素适量,无水乙醇溶解后Krebs-Ringer定容,摇匀,作为贮备液。精密吸取上述贮备液Krebs-Ringer液,稀释一定浓度的标准品溶液。

以Krebs-Ringer液为空白,利用UV-7504型紫外可见分光光度仪在426 nm下测定吸光度值A,以吸光度A对浓度C进行线性回归,得姜黄素的回归方程为:  $A=0.128 C$  ( $r=0.999$ )。结果表明,姜黄素在1.18-5.92 mg/L与吸光度呈良好的线性关系。

**1.4.4 CurcHD及姜黄素的溶解度测定** 称取过量的CurcHD、姜黄素,分别加入适量超纯水,形成过饱和的CurcHD、姜黄素溶液,  $(37\pm 2)$  °C下匀速搅拌,直至达到平衡。将所得悬浮液通过微孔膜过滤器(0.45  $\mu$ m孔径)过滤,用UV-7504型紫外可见分光光度仪于426 nm处测定吸光度值。

**1.4.5 CurcHD粒径及Zeta电位测定** 取CurcHD,超纯水稀释10倍后,采用马尔文粒径测定仪测定CurcHD的粒径和Zeta电位。

**1.4.6 CurcHD的显微照相** 取适量姜黄素、羟丙基- $\beta$ -环糊精、CurcHD及姜黄素+羟丙基- $\beta$ -环糊精物理混合物,分别于200倍显微镜下观察其显微形态。

**1.4.7 动物实验设计<sup>[12, 14]</sup>** 动物实验是按照重庆医科大学实验动物委员会批准的协议进行的。在实验期间,所有动物在受控条件下饲养,给药前禁食不少于12 h,不禁水。

将12只SD大鼠随机分为2组,分别进行姜黄素、CurcHD体内肠灌注,每组6只。腹腔注射3.5%水合氯醛10 mL/kg麻醉12只SD大鼠,固定大鼠于实验台,沿腹中线打开腹腔,选择每只大鼠的4个肠段(十二指肠、空肠、回肠及结肠),并用柔性管插管所选择的肠段(每段10 cm长)的一端,插管起始点(幽门括约肌远端1 cm,幽门括约肌远端15 cm,盲肠近端20 cm,盲肠远端1 cm)分别位于十二指肠、空肠、回肠和结肠段。插管结扎稳固,通过恒流泵,采用  $(37\pm 2)$  °C的生理盐水冲洗大鼠肠内容物,排出生理盐水。空白Krebs-Ringer循环液0.2 mL/min循环各肠段15 min以达平衡,以生理盐水浸润的脱脂棉覆盖腹腔伤口,红外灯保温。然后更换小瓶内(质量已知)装有的相当于含姜黄素60 mg/L的含药循环液(CurcHD水溶液,姜黄素混悬液),以流速为0.2 mL/min进行药液灌注。在各肠段对应出口处用另一小瓶(质量已知)收集灌注药液,实验结束后空气排出药液,并用Krebs-Ringer液冲洗管道数次,将冲洗液与灌注液混合,Krebs-Ringer定容至25 mL,待测。分别测量并记录大鼠各灌注肠段的长度和内径。

**1.5 主要观察指标** CurcHD与姜黄素的溶解度,以及CurcHD与姜黄素在大鼠体内各肠段的吸收速率常数( $K_a$ )和有效渗透率( $P_{app}$ )。

**1.6 统计学分析** 药代实验数据通过SPSS-17.0社会科学统计软件包进行处理。

## 2 结果 Results

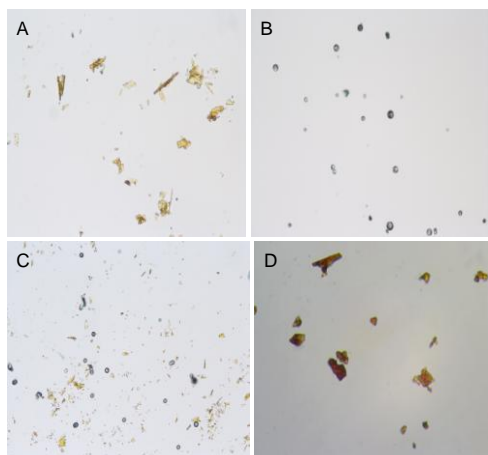
**2.1 分析方法学验证** 通过紫外可见分光光度法对不同浓度的姜黄素测定吸光度,得到姜黄素的回归方程为:

$A=0.128$   $C(r=0.999)$ 。对测定方法进行了方法学考察, 测定方法日内精密度、日间精密度良好; 平均回收率为99.95%, 相对标准偏差RSD=0.27%, 平均回收率符合测定分析要求; 姜黄素混悬液的稳定性良好, 能满足实验测定需要。

**2.2 姜黄素及CurcHD溶解度的测定结果** 通过研磨法将姜黄素制备成CurcHD后, 姜黄素的水中溶解度由(0.06±0.18) g/L增加到(1.92±0.11) g/L, 提高了33.68倍。

**2.3 CurcHD的粒径和Zeta电位测定结果** 通过马尔文粒径测定仪测定得到CurcHD的粒径为295.02 nm, Zeta电位为-20.7 mV。

**2.4 CurcHD及姜黄素的显微形态测定结果** 由图3可看出, 游离药物姜黄素在显微镜下为黄棕色的块状物质, 空白辅料羟丙基-β-环糊精物呈现为均匀的灰色球状固体, Curc+羟丙基-β-环糊精物物理混合物在显微镜下为姜黄素黄棕色的块状物质和空白辅料羟丙基-β-环糊精物均匀的灰色球状固体物理混合状态, 而CurcHD呈现为深棕色的不规则状态, 与姜黄素、羟丙基-β-环糊精物及姜黄素+羟丙基-β-环糊精物物理混合物的显微形态有明显区别, 辅助说明CurcHD初步包合成功。



图注: 图中 A 为姜黄素, 为块状物质; B 为羟丙基-β-环糊精物, 为均匀的球状固体; C 为姜黄素与羟丙基-β-环糊精物物理混合物, 为姜黄素块状物质和羟丙基-β-环糊精物均匀的球状固体物理混合状态; D 为姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物, 为不规则状态。

图3 不同物质的显微形态(×200)

Figure 3 Micromorphology of curcumin

**2.5 CurcHD及姜黄素在体肠吸收行为考察结果** 根据公式计算结果。

$$\text{吸收百分率} \% = \frac{X_0 - X_t}{X_0} \times 100\%$$

式中 $X_0$ 为药物的初始量,  $X_t$ 为时间 $t$ 时药物的总量。

$$K_a = Q \times 1 - (X_{out} / X_{in}) / V$$

$$P_{app} = Q \times \frac{\ln(X_{in} / X_{out})}{2\pi r l}$$

式中:  $Q$ 为灌流的速度,  $l$ 和 $r$ 为灌流肠段的长度和内径,  $V$ 为待测肠段的体积,  $X_{in}$ 为灌流入肠道的药物总量,  $X_{out}$ 为灌流出肠道的药物总量。

CurcHD在各个肠段的吸收情况, 见图4-6, CurcHD在每一个对应肠段中具有显著高于游离姜黄素的 $K_a$ (或 $P_{app}$ )值; 在十二指肠、空肠、回肠和结肠中, CurcHD的平均 $K_a$ (或 $P_{app}$ )值分别是姜黄素的189.43%(或185.35%)、220.94%(或345.34%)、207.43%(或277.85%)和187.32%(或587.51%), 较游离姜黄素均有所提高。

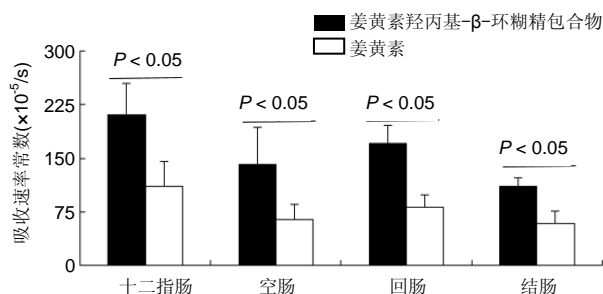


图4 姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物与姜黄素在不同肠段中的吸收速率常数

Figure 4 Absorption rate constant of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin and curcumin in different segments of rat intestines

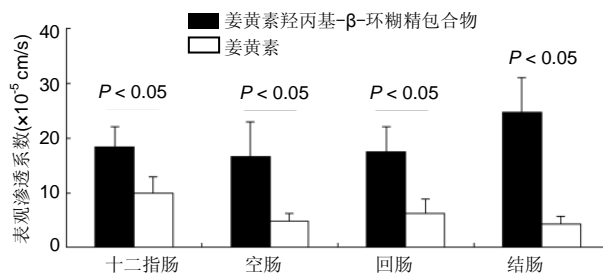


图5 姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物与姜黄素在不同肠段中的表现渗透系数

Figure 5 Apparent permeability coefficient of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin and curcumin in different segments of rat intestines

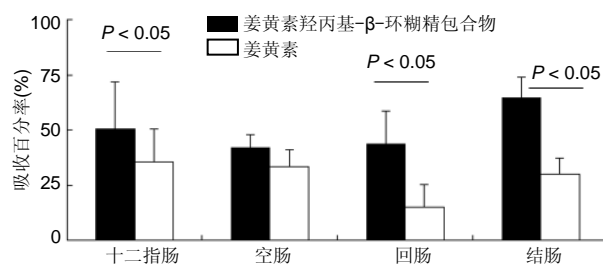


图6 姜黄素羟丙基-β-环糊精包合物与姜黄素在不同胃肠段的吸收百分率

Figure 6 Absorption percentage of curcumin hydroxypropyl-β-cyclodextrin and curcumin in different gastrointestinal tracts

### 3 讨论 Discussion

姜黄色素在食品和治疗方面具有广泛用途, 其在印度被广泛使用, 也是世界上最受欢迎的膳食补充剂之一<sup>[15-16]</sup>。姜黄色素可降低高脂血症和胰岛素抵抗, 影响高密度脂蛋



白功能性<sup>[17]</sup>；降低非酒精性脂肪肝病患者的肝脏脂肪<sup>[18]</sup>；作为头颈部鳞状细胞癌的抗癌药物具有良好的治疗效果<sup>[19]</sup>，对胃、结肠癌、乳腺癌均有较好的抑制作用；对烟草烟雾诱发的肝癌有预防作用，对肿瘤细胞具有细胞毒性作用；对肺癌干细胞具有抑制作用。有研究表明，姜黄色素的纳米复合物已被用于治疗癌症<sup>[20]</sup>。姜黄色素在化疗中起到了积极的作用，是一种化学增敏剂，同时也减少了化疗药物的毒副作用，对正常细胞具有辐射防护作用，对紫外线B损伤有保护作用，对皮肤健康有有益的作用。

单体姜黄素是从姜黄色素分离出的单体之一，为黄色略带酸性的多酚类化合物，在碱性环境下不稳定。课题组体内肠吸收实验过程中，选择pH=6.5的Krebs-Ringer作为循环液，在前期实验中考察了CurcHD和姜黄素在肠道灌流液中(37 °C, 180 min)的稳定性，发现CurcHD和姜黄素肠道灌流液在37 °C放置180 min稳定。

姜黄素溶解度极低，几乎不溶于水。通过研磨法将姜黄素制备成环糊精包合物CurcHD，提高了姜黄素在水中的溶解度。增加难溶性药物溶解度的方法，较直接和方便易行的方法有调节pH值或应用增溶剂、助溶剂和潜溶剂等<sup>[21]</sup>。环糊精的特殊立体环状结构“内疏水、外亲水”，疏水空腔可对难溶性药物进行包合，进而提高药物溶解度和稳定性。环糊精是由淀粉酶降解产生的物理化学稳定大分子，具备水溶性、生物相容性，并具有亲水性的外表面和亲脂性腔，为截锥或环面的形状，而不是完美的圆柱体<sup>[22]</sup>。常见的天然环糊精有 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ -环糊精。 $\beta$ -环糊精具有理想的空腔尺寸，有效的药物络合和负载，可用性和相对较低的成本，被认为是理想的配合物<sup>[23]</sup>。羟丙基- $\beta$ -环糊精物相对 $\beta$ -环糊精和其他环糊精而言，具更好的生物相容性及水溶性，是被FDA批准的可用于注射的药用辅料。有研究表明，难溶性药物(无论抗癌或非抗癌药物)与羟丙基- $\beta$ -环糊精物形成包合物后，其水溶性、理化性质、药代动力学及药效学性质都有明显改善<sup>[13]</sup>。

药物疗效及安全性与药物进入体循环的速度和程度有关，药物只有在预期的时间内释放，且被有效部位吸收才能具有相应疗效，故研究药物的肠吸收特点可减少剂型设计的盲目性，为剂型开发提供科学依据。

评价药物在肠道吸收的方法主要有在体法、离体法和体内法。与离体法和体内法相比，在体法的优势是保证了血液和淋巴液的供应，因不切断实验大鼠的血管及神经系统，提高了实验动物各肠段的生物活性。在体法又包括在体循环法和单向灌流法，体循环肠灌流因长时间(4-6 h)以较高体积流量(2-5 mL/min)回流灌流液，对肠黏膜损伤较大，导致药物吸收增加，使实际测得值与真实值之间存在较大偏差<sup>[24-26]</sup>；单向灌流法以较低体积流量对大鼠某一肠段进行单向灌流，实验条件接近体内肠道环境<sup>[27]</sup>。灌流速度在一定程度上代表实验动物肠道蠕动的生理状态，在健康未做过其他任何研究的大鼠体内肠灌流实验中，灌流速

度一般为0.2-0.3 mL/min，对需要考察的药物吸收速率稳定，故实验采用单向灌流法考察CurcHD在各肠的吸收特性。

肠道吸收已被公认为是影响口服药物生物利用度的一个关键因素。在此次研究中，姜黄素主要经肠道吸收。通过研磨法将姜黄素加载到羟丙基- $\beta$ -环糊精空穴中，姜黄素在各肠段的吸收明显增加。CurcHD在每一个对应肠段中具有显著高于游离姜黄素的 $K_a$ (或 $P_{app}$ )值。在十二指肠、空肠、回肠和结肠中，CurcHD的平均 $K_a$ (或 $P_{app}$ )值分别是姜黄素的189.43%(或185.35%)、220.94%(或345.34%)、207.43%(或277.85%)和187.32%(或587.51%)，较游离姜黄素均有所提高，表明将姜黄素制备成CurcHD后，通过改善姜黄素的水溶性促进了姜黄素在大鼠各肠段的吸收。

姜黄素具有良好的抗癌、抗炎等药理作用而受到广泛关注。李万玉等<sup>[28]</sup>将姜黄素进行修饰，发现固体脂质纳米粒能提高姜黄素在大鼠各肠段的吸收至少2倍以上。张雪等<sup>[29]</sup>采用羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物作为药物载体，将难溶性药物吴茱萸碱制备成其环糊精包合物，大鼠在体肠吸收特性结果表明，包合物可很大程度上改善药物在大鼠各肠段的吸收，其中包合物在结肠段的吸收速率常数 $P_{app}$ 较吴茱萸碱提高了28.86倍之多，表明羟丙基- $\beta$ -环糊精在改善难溶性药物在大鼠各肠段的吸收方面是一个不错的药物载体。张景劼课题组<sup>[30]</sup>将姜黄素制备成姜黄素羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物，考察其在SD大鼠体内的药代动力学性质，发现环糊精包合物在水中溶解度是姜黄素的32倍，增加了药物在大鼠体内的生物利用度，促进了药物的吸收，而姜黄素磷脂复合物在水中溶解度是姜黄素的2.63倍<sup>[31]</sup>。此次实验通过分离姜黄色素混合物，将得到的单体姜黄素制备成CurcHD，结果表明其在大鼠各肠段的吸收有明显提高。

通常制备环糊精包合物的方法主要有研磨法、超声法、冷冻干燥法、饱和水溶液法等<sup>[32-34]</sup>。由于羟丙基- $\beta$ -环糊精在水中的溶解度较大(750 g/L)<sup>[35]</sup>，课题组采用研磨法制备CurcHD。

通过环糊精包合技术研磨法制备得到的CurcHD，改善了姜黄素难溶于水的性质，提高了姜黄素在大鼠各肠段的吸收( $K_a$ 、 $P_{app}$ 或PA)；建立了紫外可见分光光度法测定姜黄素含量的方法，方法学考察符合测定要求，灵敏度高，操作简单；通过开展此次实验，有望为其姜黄素新的制剂设计和临床合理用药提供参考。

**作者贡献：**张景劼进行实验设计，实验实施为罗见春、钟萌、万胜利，实验评估为郭琦，资料收集为张敏，罗见春成文，张景劼审核。

**经费支持：**该文章接受了“重庆市科委项目(cstc2017shmsA0174)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突：**文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**机构伦理问题：**实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下

进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《动物实验体内实验研究报告规范指南》(ARRIVE 指南)。

**写作指南:** 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**生物统计学声明:** 该文统计学方法已经重庆医科大学生物统计学专家审核。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

[1] Lin CC, Lin HY, Chi MH, et al. Preparation of curcumin microemulsions with food-grade soybean oil/lecithin and their cytotoxicity on the HepG2 cell line. *Food Chem.* 2014;154:282-290.

[2] Garrido-Armas M, Corona JC, Escobar ML, et al. Paraptosis in human glioblastoma cell line induced by curcumin. *Toxicol In Vitro.* 2018;51:63-73.

[3] Chen M, Du ZY, Zheng X, et al. Use of curcumin in diagnosis, prevention, and treatment of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res.* 2018;13(4):742-752.

[4] Koo BB, Calderazzo S, Bowley BGE, et al. Long-term Effects of Curcumin in the Non-human Primate Brain. *Brain Res Bull.* 2018;142:88-95.

[5] Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of Curcuma longa: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev.* 2009;14:141-153.

[6] 孙永,彭明利.姜黄素及其衍生物在肝脏相关疾病中防治作用的研究进展[J].*药学报*,2014,49(11):1483-1490.

[7] Bai X, Oberley-Deegan RE, Bai A, et al. Curcumin enhances human macrophage control of Mycobacterium tuberculosis infection. *Respirology.* 2016;21(5):951-957.

[8] 张继芬,唐勤,莫婷,等.姜黄素磷脂载体的表征及肠吸收研究[J].*中国药理学杂志*,2012,47(21):1736-1740.

[9] Maiti K, Mukherjee K, Gantait A, et al. Curcumin-phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. *Int J Pharm.* 2007;330(1-2):155-163.

[10] Lu PS, Inbaraj BS, Chen BH. Determination of oral bioavailability of curcuminoid dispersions and nanoemulsions prepared from Curcuma longa Linnaeus. *J Sci Food Agric.* 2018;98(1):51-63.

[11] 赵会娟,刘红星,黄初升,等.姜黄色素3种主要成分的分离纯化研究进展[J].*化工技术与开发*,2012,41(7):41-46.

[12] 闫文丽,黄兆胜,曾晓会,等.单向灌流法研究姜黄素的大鼠在体肠吸收[J].*今日药理学*,2012,3(12):137-141.

[13] Tan Q, Wu J, Li Y, et al. A supermolecular curcumin for enhanced antiproliferative and proapoptotic activities: molecular characteristics, computer modeling and in vivo pharmacokinetics. *Nanotechnology.* 2013;24(3):035102.

[14] Hu J, Chen D, Jiang R, et al. Improved absorption and in vivo kinetic characteristics of nanoemulsions containing evodiamine-phospholipid nanocomplex. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:4411-4420.

[15] Kunnumakkara AB, Bordoloi D, Padmavathi G, et al. Curcumin, the golden nutraceutical: Multitargeting for multiple chronic diseases. *Br J Pharmacol.* 2017;174(11):1325-1348.

[16] Andrew R, Izzo AA. Principles of pharmacological research of nutraceuticals. *Br J Pharmacol.* 2017;174(11):1177-1194.

[17] Ganjali S, Blesso CN, Banach M, et al. Effects of curcumin on HDL functionality. *Pharmacol Res.* 2017;119:208-218.

[18] Rahmani S, Asgary S, Askari G, et al. Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease with Curcumin: A Randomized Placebo-controlled Trial. *Phytothe Res.* 2016;30(9):1540-1548.

[19] Banik U, Parasuraman S, Adhikary AK, et al. Curcumin: the spicy modulator of breast carcinogenesis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2017;36(1):98.

[20] Davatgaran-Taghipour Y, Masoomzadeh S, Farzaei MH, et al. Polyphenol nanoformulations for cancer therapy: experimental Evidence and clinical perspective. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:2689-2702.

[21] 何瑶,徐晓玉,陈红,等.卡前列甲酯-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备和评价[J].*中国新药杂志*,2018,27(6):637-643.

[22] Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. Nanosizing: a Formulation Approach for poorly-water-soluble compounds. *Eur J Pharm Sci.* 2003;18(2):113-120.

[23] Gidwani B, Vyas A. A Comprehensive Review on Cyclodextrin-Based Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Cytotoxic Anticancer Drugs. *Biomed Res Int.* 2015;2015:198268.

[24] 邓少东,张鹏,林励,等.单向灌流法研究巴戟天低聚糖的大鼠肠吸收特性[J].*中国中药杂志*,2015,40(1):134-140.

[25] 刘诗雨,柏希慧,董林娟,等.基于单向灌流法的葛根素羧甲基壳聚糖微球肠吸收特性研究[J].*中草药*,2016,47(14):2488-2491.

[26] 罗铁凡,任利翔,李晓红,等.药物肠道吸收研究方法概述[J].*药物评价研究*,2017,40(5):706-710.

[27] 邓少东,林靖然,林励,等.巴戟天素的大鼠在体肠吸收动力学[J].*中国实验方剂学杂志*,2015,21(4):89-93.

[28] 李万玉,晏子俊,孙立力.姜黄素固体脂质纳米粒在大鼠体肠中吸收的研究[J].*食品与生物技术学报*,2017,36(7):733-737.

[29] 张雪,刘宏明,雷婷婷,等.吴茱萸碱羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物大鼠在体肠吸收特征[J].*第二军医大学学报*, 2016,11(37):1387-1391.

[30] 罗见春,胡雪原,吴建勇,等.姜黄素羟丙基- $\beta$ -环糊精磷脂复合物在大鼠体内药代动力学研究[J].*中药材*,2015,38(3):572-575.

[31] 罗见春,何丹,尹华峰,等.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(7):754-757.

[32] 徐伟良,詹怡飞,杨岚.NL-101-羟丙基倍他环糊精包合物的制备及其特性研究[J].*中国现代应用药学*,2017,34(11):1568-1571.

[33] 赵孝先,高玲,梁园园,等.丁苯酞-磺丁基- $\beta$ -环糊精包合物的制备与表征[J].*中国现代应用药学*,2016,33(6):762-767.

[34] 高振坤,王兰.姜黄素-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备及其理化性质研究[J].*中国药房*,2007,13(18):999-1000.

[35] 周云,符旭东,毕诗涛.盐酸奈必洛尔-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备及表征[J].*中国新药杂志*,2018,27(8):954-959.