

# 姜黄素-色氨酸共无定型的制备及其在大鼠体内的药动学研究

陆佳璐\*, 邓丽娜#(南京中医药大学附属张家港医院药学部, 江苏 张家港 215600)

中图分类号 R944.9;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)17-2348-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.09

**摘要** 目的:制备姜黄素(CUR)-色氨酸(TRY)共无定型(Co-amorphous CUR-TRY),并研究其在大鼠体内的药动学特征。方法:采用球磨法制备 Co-amorphous CUR-TRY;利用差示扫描量热分析法和粉末X射线衍射法对 Co-amorphous CUR-TRY 进行表征分析,并于漏槽和非漏槽条件下比较 Co-amorphous CUR-TRY、CUR 原料药、CUR-TRY 物理混合物的体外溶出率(溶出度)。取 18 只 SD 大鼠,随机分为 Co-amorphous CUR-TRY 组(155.43 mg/kg)、CUR 原料药组(100 mg/kg)、CUR-TRY 物理混合物组(155.43 mg/kg),每组 6 只,灌胃给药 1 次,于给药后 0.167、0.33、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、8、10、12、24 h 从各组大鼠眼眶静脉丛取血约 0.3 mL,采用超高效液相色谱-串联质谱法测定大鼠血浆中 CUR 的浓度,并应用 DAS 3.0 软件进行药动学研究。结果:差示扫描量热分析和粉末 X 射线衍射结果表明成功制备 Co-amorphous CUR-TRY。漏槽条件下(120 min 时),与 CUR 原料药[CUR 累积溶出率为(36.79±3.79)%]和 CUR-TRY 物理混合物[CUR 累积溶出率为(33.12±0.68)%]比较,Co-amorphous CUR-TRY 中 CUR 的累积溶出率[(90.37±2.52)%]显著提高( $P<0.01$ )。非漏槽条件下,与 CUR 原料药和 CUR-TRY 物理混合物比较,Co-amorphous CUR-TRY 中 CUR 具有较高的溶出度,并且维持长时间的超饱和程度。药动学实验结果显示,与 CUR 原料药组和 CUR-TRY 物理混合物组比较,Co-amorphous CUR-TRY 组  $c_{max}$ 、 $AUC_{0-24 h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  显著增加( $P<0.01$ ),CUR 的相对生物利用度分别提高了 2.14、1.86 倍( $P<0.01$ )。结论:本研究制备的 Co-amorphous CUR-TRY 能有效提高 CUR 的体外溶出度及大鼠体内生物利用度。

**关键词** 姜黄素;色氨酸;共无定型;超高效液相色谱-串联质谱法;大鼠;药动学;溶出度;生物利用度

## Preparation of Co-amorphous Curcumin-tryptophan and Its Pharmacokinetic Study in Rats

LU Jialu, DENG Lina (Dept. of Pharmacy, Zhangjiagang Hospital Affiliated to Nanjing University of TCM, Jiangsu Zhangjiagang 215600, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Co-amorphous curcumin (CUR)-tryptophan (TRY) (Co-amorphous CUR-TRY), and to study its pharmacokinetic characteristics in rats. METHODS: Co-amorphous CUR-TRY was prepared by ball milling method. differential scanning calorimetry (DSC) and powder X-ray diffraction (XRD) were used to characterize Co-amorphous CUR-TRY. The *in vitro* dissolution rate (dissolution) of Co-amorphous CUR-TRY, CUR and CUR-TRY physical mixture were compared under sink condition and non-sink condition. 18 SD rats were selected and randomly divided into Co-amorphous CUR-TRY group (155.43 mg/kg), CUR raw material group (100 mg/kg), CUR-TRY physical mixture group (155.43 mg/kg), with 6 rats in each group. They were given relevant medicine intragastrically once. Each blood samples 0.3 mL were collected from orbital venous plexus 0.167, 0.33, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h after medication. UPLC-MS/MS was used to determine plasma concentration of CUR in rats. The pharmacokinetic study was performed by using DAS 3.0 software. RESULTS: DSC and XRD showed that Co-amorphous CUR-TRY was successfully prepared. Under sink condition (120 min), compared with CUR raw material [cumulative dissolution rate of CUR is (36.79±3.79)%] and CUR-TRY physical mixture [cumulative dissolution rate of CUR is (33.12±0.68)%], cumulative dissolution rate of CUR in Co-amorphous CUR-TRY (90.37±2.52)% was improved significantly ( $P<0.01$ ). Under non-sink condition, compared with CUR raw material and CUR-TRY physical mixture, CUR of Co-amorphous CUR-TRY exhibited dissolution and maintained supersaturation for a long time. Pharmacokinetic study showed that compared with CUR raw material group and CUR-TRY physical mixture group,  $c_{max}$ ,  $AUC_{0-24 h}$  and  $AUC_{0-\infty}$  were increased significantly in Co-amorphous CUR-TRY group ( $P<0.01$ ); Relative bioavailability of CUR was improved by 2.14 and 1.86 fold ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: Prepared Co-amorphous CUR-TRY can effectively improve *in vitro* dissolution and *in vivo* bioavailability in rats of CUR.

**KEYWORDS** Curcumin; Tryptophan; Co-amorphous; UPLC-MS/MS; Rats; Pharmacokinetics; Dissolution; Bioavailability

\* 中药师。研究方向:药物制剂。E-mail:921981542@qq.com

# 通信作者:主管中药师。研究方向:药物制剂与药动学。E-mail:986178291@qq.com

姜黄素(CUR)是从姜科植物姜黄(*Curcumin longa* L.)中提取的一种相对分子质量小的多酚类物质<sup>[1-2]</sup>,其药理作用广泛,主要用于抗炎、抗癌、降血脂等<sup>[3-8]</sup>;但

CUR的水溶性极低,溶解度仅为0.96 μg/mL,且口服生物利用度极差<sup>[9]</sup>。

共无定型是固体分散体的一种特殊形式,作为一种新型的药物递送系统,是由药物与低分子量载体或者药物与药物两个小分子物质组成的二元无定型系统<sup>[10-12]</sup>。共无定型不仅可以解决难溶性药物的溶解度问题,还为药物的联合应用提供了新的思路。据报道,组成共无定型的两组分的物质的量之比多为1:1、1:2、2:1,其中1:1最为常用,且在此比例下两组分混溶性良好,可达到分子水平的均匀混合,相互作用更强,有助于提高共无定型的稳定性<sup>[13-15]</sup>。共无定型常用的制备方法有球磨法、淬火冷却法、溶剂法等<sup>[16-18]</sup>,将药物晶体转变成无定型状态,能增加难溶性药物的溶解度和溶出表现;另外,共无定型制剂可以产生超饱和行为,增强药物的胃肠道吸收<sup>[19]</sup>。在超饱和体系中,溶液中的药物浓度高于其平衡溶解度,使得在溶液状态下有更多的游离药物可供机体吸收<sup>[20]</sup>。

色氨酸(TRY)是重要的营养剂,有助于动物体内血浆蛋白的更新,促使核黄素发挥作用,还有助于促进烟酸及血红素的合成等,常用于共无定型的制备<sup>[21]</sup>。因此,本研究选择TRY为配体,将CUR与TRY按1:1(物质的量之比)结合制成CUR-TRY共无定型(Co-amorphous CUR-TRY),并采用差示扫描量热分析法和粉末X射线衍射法对制备的Co-amorphous CUR-TRY进行表征及体外溶出评价,以期稳定CUR的无定型状态,增强CUR的溶出表现,达到提高CUR生物利用度的目的。

## 1 材料

### 1.1 仪器

2695高效液相色谱仪、TQD超高效液相色谱三重四级杆质谱联用仪系统(美国Waters公司);CPA 225D电子分析天平(南京以马内利仪器设备有限公司);XP/XS微量分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);CL21 R高速离心机(美国Thermo Fisher公司);D/max 2500粉末X射线衍射仪(日本Rigaku公司);200F3差示扫描量热仪(德国Netzsch公司);pHS-25酸度计(上海雷磁仪表厂);ZRS-8GD智能溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司);MX-S1100涡旋混合仪(美国赛洛捷克公司);Centrivap离心浓缩仪(美国Labconco公司)。

### 1.2 药品与试剂

CUR原料药(批号:R08S8S43416,纯度:98%)、TRY原料药(批号:J23M6R3,纯度:99%)、维拉帕米(VER,内标,批号:Y05J6C2,纯度:98%)均购自上海源叶科技有限公司;CUR对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110823-201405,纯度:98.9%);聚山梨酯80、盐酸、乙酸乙酯、氢氧化钠、磷酸二氢钾均为分析纯;乙腈为色谱纯;水为超纯水。

## 1.3 动物

SPF级SD大鼠,♂,体质量约(220±20)g,购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,动物生产许可证号为SCXK(苏)2017-0001。

## 2 方法与结果

### 2.1 Co-amorphous CUR-TRY的制备及表征分析

2.1.1 Co-amorphous CUR-TRY的制备 取适量CUR原料药和TRY(物质的量之比为1:1)进行物理混合,得CUR-TRY物理混合物;再取2g CUR-TRY物理混合物置于250 mL的球磨罐中,分别依次加入直径为8 mm的玛瑙球15个、直径为6 mm的玛瑙球25个、直径为4 mm的玛瑙球50个进行球磨,即得Co-amorphous CUR-TRY。为了防止样品升温,每研磨30 min后,将球磨罐置于冰浴中冷却10 min,球磨总时间为240 min,然后置于干燥器中保存,备用。另称取2g CUR原料药,同上述方法制备球磨CUR。

2.1.2 Co-amorphous CUR-TRY的表征分析 ①差示扫描量热分析。分别取CUR原料药、TRY原料药、球磨CUR、CUR-TRY物理混合物、Co-amorphous CUR-TRY适量(约5~10 mg)置于铝坩埚中,按测试条件(氮气流速为50 mL/min;升温速率为10 °C/min;升温范围为25~350 °C)进行差示扫描量热分析。差示扫描量热分析图见图1。

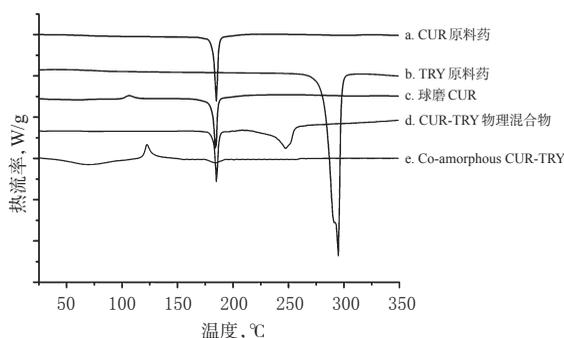


图1 差示扫描量热分析图

Fig 1 Differential scanning calorimetry

由图1可知,CUR原料药的熔点峰在181.9 °C处,TRY原料药的熔点峰在290.3 °C处;球磨CUR的熔点峰仍然存在,表明通过球磨法无法得到无定型CUR;CUR-TRY物理混合物中存在CUR的熔点峰,且在239.9~254.7 °C存在吸热峰,表明CUR-TRY物理混合物可能发生低共熔现象;在Co-amorphous CUR-TRY中,出现单一的玻璃化转变温度(71.5 °C处),且在122.4 °C处出现明显的放热峰,表明Co-amorphous CUR-TRY发生重结晶,同时CUR出现微弱的吸热峰,TRY的熔点峰消失,因此,初步判断CUR和TRY以无定型形式存在。

②粉末X射线衍射。分别取CUR原料药、TRY原

料药、球磨CUR、CUR-TRY物理混合物、Co-amorphous CUR-TRY适量置于载玻片上,铺平,放入粉末X射线衍射仪中进行检测,检测条件为Cu靶(40 kV, 40 mA)、步长0.02°、扫描速度2°/min、扫描范围3°~40°(2θ)。粉末X射线衍射图见图2。

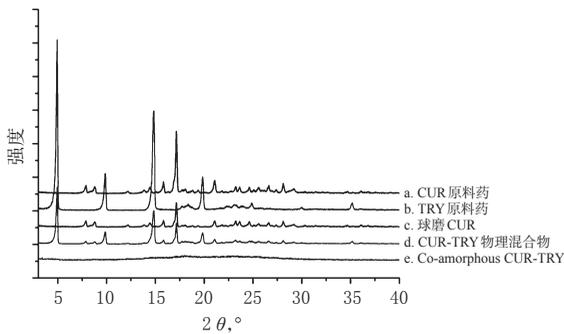


图2 粉末X射线衍射图

Fig 2 X-ray powder diffraction pattern

由图2可知,CUR原料药在7.8°、8.7°、14.4°、15.8°、17.2°、21.0°、23.2°、23.6°、24.6°、25.5°、26.6°、28.1°处有较强的特征晶体衍射峰,TRY原料药在4.9°、9.8°、14.8°、19.8°、24.8°、29.6°、35.1°处有较强的特征晶体衍射峰,球磨CUR的CUR晶体衍射峰仍然存在,CUR-TRY物理混合物存在CUR和TRY特征晶体衍射峰,而在Co-amorphous CUR-TRY中,CUR和TRY的特征晶体衍射峰全部消失,说明CUR和TRY以无定型形式存在。

## 2.2 CUR的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.5%磷酸水溶液(60:40, V/V);流速:1 mL/min;柱温:35 °C;进样量:10 μL;检测波长:425 nm。

2.2.2 溶液的制备 ①CUR对照品溶液。精密称取CUR对照品2.082 mg,置于10 mL的棕色量瓶中,甲醇超声溶解,定容至刻度,摇匀,即得质量浓度为208.2 μg/mL的CUR对照品溶液。②供试品溶液。精密称取Co-amorphous CUR-TRY适量,置于50 mL量瓶中,甲醇超声(功率:400 W,频率:20 kHz)溶解,定容至刻度,摇匀,即得(其中CUR的质量浓度为52.22 μg/mL)。

2.2.3 专属性试验 取CUR对照品溶液、供试品溶液各10 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。结果,Co-amorphous CUR-TRY中无其他杂质干扰,以CUR峰计理论板数>2 000,表明该方法的专属性良好。高效液相色谱图见图3。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取CUR对照品溶液适量,分别稀释0、2、4、8、16、32、64倍,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以CUR对照品质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归。结果,回归

方程为 $y=83\ 480x+82\ 499$ ( $R^2=0.999\ 9$ ),CUR线性范围为3.25~208.20 μg/mL。

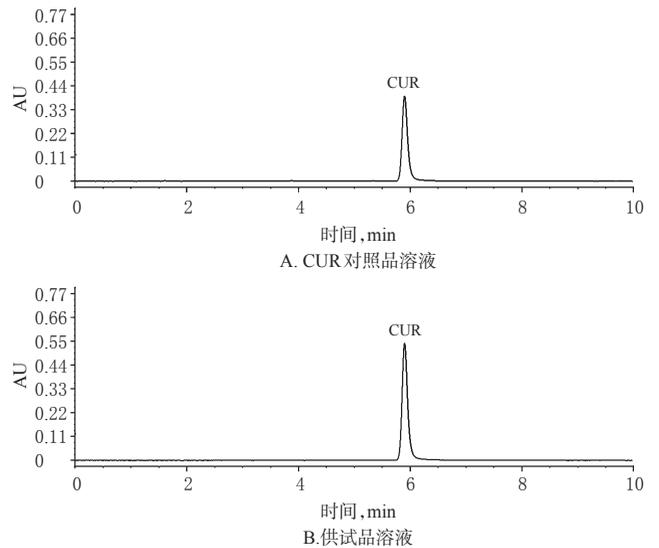


图3 高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatogram

2.2.5 精密度试验 取“2.2.4”项下低、中、高质量浓度(3.25、52.05、104.10 μg/mL)的CUR对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件,连续进样6次,记录峰面积。结果,CUR低、中、高质量浓度的峰面积的RSD分别为2.05%、1.22%、1.14%(n=6)。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下的供试品溶液,于室温下分别放置0、2、4、8、12、24 h后,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果,CUR峰面积的RSD为1.68%(n=6)。

2.2.7 重复性试验 按“2.2.2”项下方法平行制备6份Co-amorphous CUR-TRY供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算含量。结果,CUR的平均含量为96.05%,RSD为1.57%(n=6)。

2.2.8 加样回收率试验 称取6份已知含量的Co-amorphous CUR-TRY适量,分别加入等量的CUR对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。结果,Co-amorphous CUR-TRY中CUR的平均回收率为95.66%,RSD为1.37%(n=6)。

## 2.3 漏槽条件下Co-amorphous CUR-TRY的体外溶出试验

为了考察不同样品的累积溶出率,精密称取CUR原料药(10 mg)、CUR-TRY物理混合物(15.54 mg,CUR与TRY的物质的量之比为1:1,其中CUR 10 mg)、Co-amorphous CUR-TRY(15.54 mg,其中CUR 10 mg),按2015年版《中国药典》(四部)附录XC溶出度测定法第二法有关规定进行测量<sup>[22]</sup>,溶出介质为含0.5%聚山梨酯80的磷酸盐缓冲液(pH 6.8),溶出介质体积为900 mL,

温度为37℃,转速为100 r/min,平行3份,分别于5、15、30、45、60、90、120 min时取样5 mL(随即补足等温度等量的溶出介质),0.45 μm微孔滤膜滤过,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算各时间点CUR的质量浓度及累积溶出率[累积溶出率=CUR溶出质量/投入量×100%,CUR溶出质量=当前取样点CUR的质量浓度×介质体积+之前取样点CUR的质量浓度×取样量],然后绘制漏槽条件下CUR的体外溶出曲线。采用SPSS 24.0软件进行统计学分析,通过单因素方差分析比较多组间的差异,*t*检验评估两组间的差异。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。漏槽条件下CUR的体外溶出曲线见图4。

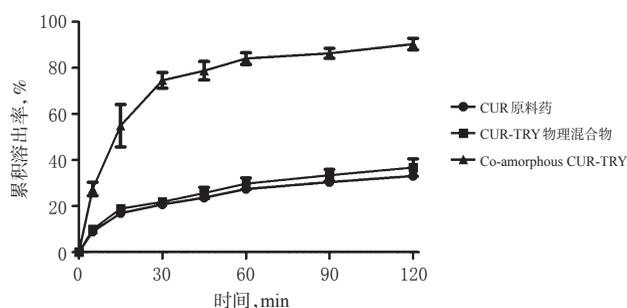


图4 漏槽条件下CUR的体外溶出曲线

Fig 4 Dissolution curves of CUR under sink condition

由图4可知,在漏槽条件下,与CUR原料药比较,CUR-TRY物理混合物中CUR累积溶出率稍有提高,但无显著性差异。在120 min时,与CUR原料药[CUR累积溶出率为(36.79 ± 3.79)%]和CUR-TRY物理混合物[CUR累积溶出率为(33.12 ± 0.68)%]比较,Co-amorphous CUR-TRY中CUR的累积溶出率[(90.37 ± 2.52)%]显著提高( $P < 0.01$ )。

#### 2.4 非漏槽条件下Co-amorphous CUR-TRY的体外溶出试验

为了考察Co-amorphous CUR-TRY的超饱和行为,精密称取CUR原料药(100 mg)、CUR-TRY物理混合物(155.4 mg,CUR与TRY的物质的量之比为1:1,其中CUR 100 mg)、Co-amorphous CUR-TRY(155.4 mg,其中CUR 100 mg),按2015年版《中国药典》(四部)附录XC溶出度测定法第二法有关规定进行测量<sup>[22]</sup>,溶出介质为含0.5%聚山梨酯80的磷酸盐缓冲液(pH 6.8),溶出介质体积为200 mL,温度为37℃,转速为100 r/min,平行3份,分别于0.083、0.167、0.25、0.33、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、8、12、24 h时取样2 mL(随即补足等温度等量的溶出介质),0.45 μm微孔滤膜滤过,甲醇稀释1倍后,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算各时间点CUR的溶出度,然后绘制非漏槽条件下CUR的体外溶出曲线。非漏槽条件下CUR的体外溶出曲线见

图5。

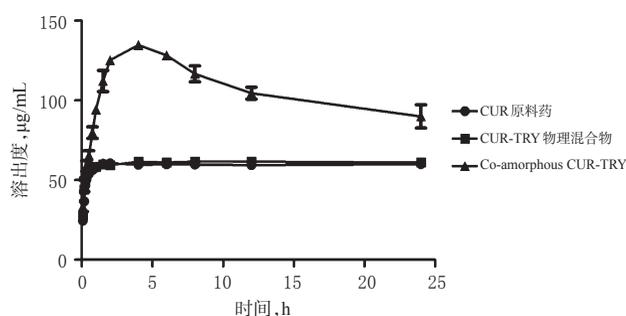


图5 非漏槽条件下CUR的体外溶出曲线

Fig 5 Dissolution curves *in vitro* of CUR under non-sink condition

由图5可知,在非漏槽条件下,CUR原料药与CUR-TRY物理混合物的体外溶出曲线相似;与CUR原料药和CUR-TRY物理混合物比较,Co-amorphous CUR-TRY中CUR具有较高的溶出度,并且维持长时间的超饱和程度。在4 h时,Co-amorphous CUR-TRY中CUR的溶出度(134.81 μg/mL)是CUR原料药(59.74 μg/mL)的2.26倍;4 h后Co-amorphous CUR-TRY中CUR的溶出度开始缓慢下降,但在24 h时,Co-amorphous CUR-TRY中CUR的溶出度仍高于CUR原料药与CUR-TRY物理混合物。

#### 2.5 Co-amorphous CUR-TRY的药学研究

2.5.1 分组与给药 取18只δ SD大鼠,随机分为CUR原料药组(100 mg/kg,按人临床用药剂量换算而得<sup>[18]</sup>,下同)、CUR-TRY物理混合物组(155.43 mg/kg)、Co-amorphous CUR-TRY组(155.43 mg/kg),每组6只,灌胃给药1次。给药前12 h禁食不禁水,实验期间自由饮水。于给药后0.167、0.33、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、8、10、12、24 h经大鼠眼眶静脉丛取血约0.3 mL,置于1.5 mL肝素化离心管中,5 000 r/min离心10 min,取上清液于-20℃冷冻保存,备用。

2.5.2 血浆样品的处理 取血浆样品100 μL,置于1.5 mL离心管中,分别加入10 μL甲醇及10 μL VER溶液,于涡旋仪上涡旋3 min,然后加入乙酸乙酯1 mL,再涡旋5 min,14 000 r/min离心10 min,吸取上清液800 μL至新的离心管中,离心浓缩至溶剂完全挥干,加入100 μL流动相复溶,涡旋5 min,14 000 r/min离心10 min,取上清液进样分析。

2.5.3 色谱及质谱条件 ①色谱条件。色谱柱:Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:0.4%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~1 min:70%→30%A;1~2 min:30%A;2~3 min:30%→70%A;3~4 min:70%A);柱温:40℃;流速:0.3 mL/min;进样量:5 μL。②质谱条件。采用正离子模式,CUR质

荷比( $m/z$ ): 369.0 $\rightarrow$ 176.9, VER  $m/z$ : 455.0 $\rightarrow$ 165.0; 锥孔电压分别为32、56 V; 碰撞能量分别为22、30 eV。

2.5.4 溶液的制备 ①CUR对照品溶液。精密称取CUR对照品适量,置于10 mL量瓶中,甲醇超声溶解,并定容至刻度,摇匀,配制质量浓度为183.7  $\mu\text{g/mL}$ 的贮备液,于4  $^{\circ}\text{C}$ 下保存。精密吸取贮备液适量,用甲醇稀释成质量浓度为1.79、3.59、7.16、14.35、28.70、57.41、114.81、229.63、459.25、918.50、1 837 ng/mL的对照品系列溶液。②VER溶液:精密称取VER对照品适量,置于10 mL量瓶中,配制质量浓度为101.2  $\mu\text{g/mL}$ 内标贮备液,于4  $^{\circ}\text{C}$ 下保存。精密吸取内标贮备液适量,用甲醇稀释成质量浓度为101.2 ng/mL的VER溶液。

2.5.5 专属性考察 精密吸取空白血浆、空白血浆+CUR对照品溶液、大鼠灌胃给药1 h后的血浆样品,按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,记录色谱图。结果,CUR与VER互不干扰,且血浆中的内源性物质对CUR的测定也没有干扰。超高效液相色谱-串联质谱图见图6。

2.5.6 线性关系考察 取100  $\mu\text{L}$ 空白血浆,分别加入CUR对照品系列溶液10  $\mu\text{L}$ ,按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,记录峰面积。以CUR质量浓度为横坐标( $x$ ),CUR与VER的峰面积比为纵坐标( $y$ )进行线性回归。结果,回归方程为 $y=0.0001x-0.0018$  ( $R^2=0.9918$ ),CUR的检测质量浓度线性范围为1.79~1 837 ng/mL。

2.5.7 精密度试验 取100  $\mu\text{L}$ 空白血浆,分别制备低、中、高(28.70、114.81、459.25 ng/mL)3个质量浓度的CUR血浆样品6份,按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,每个质量浓度同日内连续测定3次,考察日内精密度;另每天测定1次,连续测定6 d,考察日间精密度。结果,CUR低、中、高3个质量浓度样品日内RSD分别为6.73%、5.25%、4.35% ( $n=6$ ),日间RSD分别为13.24%、6.13%、5.87% ( $n=6$ )。

2.5.8 准确度试验 取100  $\mu\text{L}$ 空白血浆,分别制备低、中、高(28.70、114.81、459.25 ng/mL)3个质量浓度的CUR的质控样品,按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,记录峰面积并计算对应质量浓度。以测得质量浓度与真实质量浓度的比值计算准确度。结果,CUR低、中、高质量浓度的准确度分别为85.51%、91.33%、87.56%,RSD分别为7.83%、12.46%、10.47% ( $n=6$ )。

2.5.9 稳定性试验 取100  $\mu\text{L}$ 空白血浆,分别制备低、中、高(28.70、114.81、459.25 ng/mL)3个质量浓度的CUR的质控样品,每个浓度6份,分别进行以下处理:室温放置12 h、-20  $^{\circ}\text{C}$ 冻存14 d后解冻、-20  $^{\circ}\text{C}$ 至室温反

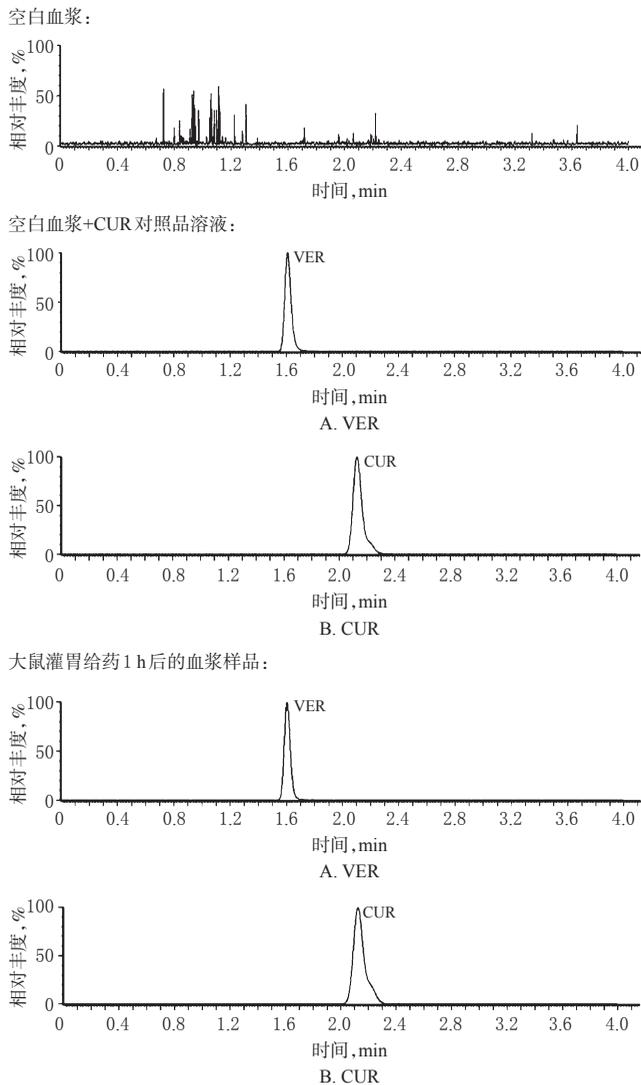


图6 超高效液相色谱-串联质谱图

Fig 6 UPLC-MS/MS chromatograms

复冻融3次,然后按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,记录峰面积。结果,室温放置12 h后CUR峰面积的RSD为4.71% ( $n=6$ ),-20  $^{\circ}\text{C}$ 冻存14 d后CUR峰面积的RSD为3.88% ( $n=6$ ),-20  $^{\circ}\text{C}$ 至室温反复冻融3次后CUR峰面积的RSD为3.52% ( $n=6$ )。

2.5.10 重复性试验 取100  $\mu\text{L}$ 空白血浆,加入质量浓度为114.81 ng/mL的CUR对照品溶液,按“2.5.2”项下方法处理,平行制备6份,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,记录峰面积。结果,CUR峰面积的RSD为4.37% ( $n=6$ ),表明处理方法的重复性良好。

2.5.11 基质效应 取100  $\mu\text{L}$ 空白血浆,分别制备低、中、高(28.70、114.81、459.25 ng/mL)3个质量浓度的CUR的质控样品,按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析。每个浓度进行6样本分析,记录峰面积,并计算CUR峰面积与内标峰面积的比值 $A_1$ ;取100  $\mu\text{L}$ 流动相代替空白血浆,按上述方法操作,

得CUR峰面积与内标峰面积的比值 $A_2$ 。基质效应公式为 $A_1/A_2 \times 100\%$ 。结果,CUR的基质效应为92.38%~98.30%,RSD为4.08%~7.53%( $n=6$ )。

2.5.12 药动学分析 取“2.5.1”项下各时间点血浆样品,按“2.5.2”项下方法处理,按“2.5.3”项下色谱及质谱条件进样分析,并计算各时间点对应的CUR血药浓度。采用DAS 3.0数据处理软件,选择非房室模型计算药动学参数。采用SPSS 24.0软件进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,若服从正态分布,则采用 $t$ 检验;若不服从正态分布,则采用Wilcoxon秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。大鼠体内CUR的药-时曲线见图7,CUR在各组大鼠血浆中的药动学参数见表1。

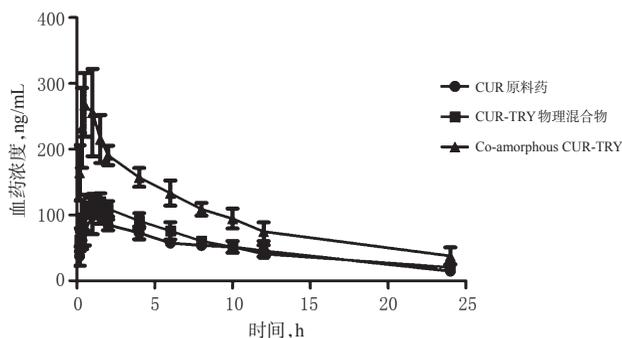


图7 大鼠体内CUR的药-时曲线

Fig 7 Plasma concentration-time curves of CUR in rats

表1 CUR在各组大鼠血浆中的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of CUR in plasma of rats( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

药动学参数	CUR原料药组	CUR-TRY物理混合物组	Co-amorphous CUR-TRY组
$c_{max}, ng/mL$	109.37 ± 17.14	121.01 ± 13.08	265.13 ± 62.26**
$t_{max}, h$	1.33 ± 0.41	1.39 ± 0.61	0.59 ± 0.33**
$t_{1/2}, h$	8.64 ± 2.54	10.12 ± 4.09	11.36 ± 5.35
$AUC_{0-24h}, ng \cdot h/mL$	1 125.53 ± 69.69	1 292.15 ± 53.42	2 407.12 ± 231.53**
$AUC_{0-\infty}, ng \cdot h/mL$	1 320.28 ± 95.59	1 495.75 ± 187.52	3 390.80 ± 965.84**

注:与CUR原料药组比较,\* $P < 0.01$ ;与CUR-TRY物理混合物组比较,\*\* $P < 0.01$

Note: vs. CUR raw material group, \* $P < 0.01$ ; vs. CUR-TRY physical mixture group, \*\* $P < 0.01$

由表1可知,CUR原料药组与CUR-TRY物理混合物组的药动学参数无显著性差异。与CUR原料药组和CUR-TRY物理混合物组比较,Co-amorphous CUR-TRY组 $c_{max}$ 、 $AUC_{0-24h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 显著增加( $P < 0.01$ ),CUR的相对生物利用度分别提高了2.14、1.86倍( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

将药物通过特定的方法由晶型转变为无定型状态,可以提高难溶性药物的溶出率和溶出度<sup>[13]</sup>。向无定型

药物中加入聚合物,将药物以无定型态分散在载体材料中,制备成药物-聚合物固体分散体,可提高难溶性药物的溶出度。但药物-聚合物固体分散体往往存在载药量低、吸湿性强、稳定性差、药物与聚合物混溶性差、胃肠道毒性等问题<sup>[23-25]</sup>。共无定型是将药物和小分子物质或者两种药物通过合适的方法制备得到的无定型单相体系,与药物-聚合物固体分散体相比,无明显的吸湿性,具有物理稳定性好、载药量高、混溶性良好等特点<sup>[10]</sup>。

在本研究中,通过球磨法成功制备了Co-amorphous CUR-TRY,并采用差示扫描量热分析和粉末X射线衍射对制备的Co-amorphous CUR-TRY进行表征分析,结果证实本研究制备的Co-amorphous CUR-TRY符合要求。在漏槽和非漏槽条件下进行Co-amorphous CUR-TRY体外溶出试验,结果与CUR原料药比较,Co-amorphous CUR-TRY有更高的溶出率且溶出度能维持长时间超饱和状态。另外,超饱和状态有助于提高难溶性药物的递送,在超饱和体系中,溶液中药物的浓度高于其溶解度,使更多的游离药物能够被胃肠道吸收,且维持超饱和时间越长,药物吸收越好<sup>[19,26]</sup>。药动学研究结果也表明,在Co-amorphous CUR-TRY组中,与CUR原料药比较CUR的相对生物利用度显著提高。

综上所述,本研究制备的Co-amorphous CUR-TRY与CUR原料药比较能够有效地改善CUR的体外溶出度及体内生物利用度,有助于扩展其临床应用。

### 参考文献

- [1] HEWLINGS SJ, KALMAN DS. Curcumin: a review of its' effects on human health[J]. *Foods*, 2017, 6(10):92.
- [2] WANG J, MA W, TU P. The mechanism of self-assembled mixed micelles in improving curcumin oral absorption: In vitro and in vivo[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015. DOI:10.1016/j.colsurfb.2015.05.056.
- [3] 郝东明,张丽,姜黄素联合伊立替康对结肠癌SW620细胞的体外抑制作用[J]. *现代药物与临床*, 2016, 31(6):731-735.
- [4] 韩伟,雷勇胜.姜黄素治疗泌尿生殖系统癌症的作用机制研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2016, 31(2):260-264.
- [5] 常明向,吴梅梅,李瀚旻.姜黄素与甘草次酸联用对肝癌HepG-2细胞增殖的抑制作用[J]. *药物评价研究*, 2017, 40(1):42-47.
- [6] MIRZAEI H, SHAKERI A, RASHIDI B, et al. Phytosomal curcumin: a review of pharmacokinetic, experimental and clinical studies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.098.
- [7] 姜程曦,吴亮,吴洁,等.姜黄素类似物抑制ERK/JNK以及NF- $\kappa$ B信号通路发挥抗炎活性研究[J]. *中草药*, 2016, 47(16):2871-2876.

- [8] 付兴会,林连美.中药姜黄主要有效成分药理学研究进展[J].湖北中医药大学学报,2015,17(4):109-110.
- [9] FAN N, HE ZG, MA PP, et al. Impact of HPMC on inhibiting crystallization and improving permeability of curcumin amorphous solid dispersions[J]. *Carbohydr Polym*, 2018. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.12.004.
- [10] LÖBMANN K, GROHGANZ H, LAITINEN R, et al. Amino acids as co-amorphous stabilizers for poorly water soluble drugs-part 1: preparation, stability and dissolution enhancement[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85(3): 873-881.
- [11] LAITINEN R, LÖBMANN K, STRACHAN CJ, et al. Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs [J]. *Int J Pharm*, 2013. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.04.066.
- [12] LÖBMANN K, LAITINEN R, STRACHAN C, et al. Amino acids as co-amorphous stabilizers for poorly water-soluble drugs-part 2: molecular interactions[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85(3):882-888.
- [13] LÖBMANN K, LAITINEN R, GROHGANZ H, et al. Co-amorphous drug systems: enhanced physical stability and dissolution rate of indomethacin and naproxen[J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(5):1919-1928.
- [14] ALLESO M, CHIENG N, REHDER S, et al. Enhanced dissolution rate and synchronized release of drugs in binary systems through formulation: amorphous naproxen-cimetidine mixtures prepared by mechanical activation[J]. *J Control Release*, 2009, 136(1):45-53.
- [15] SURESH K, MANNAVA MC, NANGIA A, et al. A novel curcumin-artemisinin coamorphous solid: physical properties and pharmacokinetic profile[J]. *RSC Adv*, 2014, 4(102):58357-58361.
- [16] HUANG R, HAN J, WANG R, et al. Surfactant-free solid dispersion of BCS class IV drug in an amorphous chitosan oligosaccharide matrix for concomitant dissolution in vitro-permeability increase[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019. DOI: 10.1016/j.ejps.2019.01.031.
- [17] CHAVAN RB, THIPPARABOINA R, KUMAR D, et al. Co amorphous systems: a product development perspective[J]. *Int J Pharm*, 2016. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.10.043.
- [18] WANG R, HAN J, JIANG A, et al. Involvement of metabolism-permeability in enhancing the oral bioavailability of curcumin in excipient-free solid dispersions co-formed with piperine[J]. *Int J Pharm*, 2019. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.02.027.
- [19] BEVERNAGE J, BROUWERS J, BREWSTER ME, et al. Evaluation of gastrointestinal drug supersaturation and precipitation: strategies and issues[J]. *Int J Pharm*, 2013, 453(1):25-35.
- [20] QIAN S, HENG W, WEI Y, et al. Coamorphous lurasidone hydrochloride-saccharin with charge-assisted hydrogen bonding interaction shows improved physical stability and enhanced dissolution with pH-independent solubility behavior[J]. *Cryst Growth Des*, 2015, 15(6):2920-2928.
- [21] 李剑欣,张绪梅,徐琪寿.色氨酸的生理生化作用及其应用[J].氨基酸和生物资源,2005,27(3):58-62.
- [22] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:121-124.
- [23] GNIADO K, MACFHIONNGHAILE P, MCARDLE P, et al. The natural bile acid surfactant sodium taurocholate (NaTC) as a cofomer in coamorphous systems: enhanced physical stability and dissolution behavior of coamorphous drug-NaTC systems[J]. *Int J Pharm*, 2018, 535(1/2):132-139.
- [24] BEYER A, GROHGANZ H, LOBMANN K, et al. Influence of the cooling rate and the blend ratio on the physical stability of co-amorphous naproxen/indomethacin[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2016. DOI: 10.1016/j.ejpb.2016.10.002.
- [25] HU LD, SHI YJ, LI JH, et al. Enhancement of oral bioavailability of curcumin by a novel solid dispersion system [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2015, 16(6):1327-1334.
- [26] 黄容,陆昕怡,韩加伟,等.姜黄素-胡椒碱固体分散体的制备与生物利用度研究[J].中草药,2018,49(19):4528-4534.

(收稿日期:2019-04-16 修回日期:2019-05-10)

(编辑:唐晓莲)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅