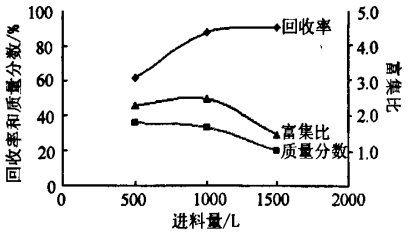

图 5 进料量对泡沫分离效果影响

Fig. 5 Effects of volumes on foam fractionation

次验证试验结果见表 1。可见，甘草水提液间歇式泡沫分离工艺稳定，可行。

表 1 验证试验结果

Table 1 Results of verification

试验号	回收率/%	富集比	质量分数/%	
			原料液	泡沫液
1	90.53	6.96	16.51	30.75
2	93.78	6.47	15.12	33.65
3	91.26	5.89	16.52	32.61

3 讨论

实验证明，泡沫分离技术用于甘草皂苷的富集与分离，具有可行性、有效性。但目前泡沫分离技术在中药分离中的应用尚处于起步阶段，因而许多问题有待进一步研究。由于泡沫分离是基于所分离组分表面活性的差异而进行的，当表面活性剂浓度达到临界胶束浓度以后，表面活性物质的表面浓度不会随着溶液主体浓度的升高而发生明显变化，此时吸附推动力减小，吸附速率变慢，分离效果下降，不如稀溶液时分离的效果好。而甘草水提液中甘草皂苷的浓度比较大，所以，泡沫分离的富集比有一上限，如何突破由此产生的限制，对提高分离效率有重要意义。中药水提液中成分复杂，各组分表面活性差异并不特别显著，因此，分离的选择性问题也有待于进一步提高。

虽然泡沫分离技术在中药分离中的应用还处于起步阶段，许多问题如吸附动力学、吸附过程中各成分间的选择性等问题还需深入研究，但由于泡沫分离技术具有其他常用分离方法无法比拟的优势，如成本低、无需添加化学试剂、回收率高等，因此泡沫分离技术是一种应用前景非常广阔的新型分离技术。

References:

[1] Lin Q S. *Constituent Chemistry of Chinese Herbal Medicine* (中草药成分化学) [M]. Beijing: Science Press, 1977.

[2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2005.

姜黄素微乳的体内吸收研究

崔 晶[1,2]，翟光喜[1*]，赵 宇[1]，娄红祥[1]

(1. 山东大学药学院药物制剂研究所，山东 济南 250012；
2. 山东大学齐鲁医院 药剂科，山东 济南 250012)

摘 要：目的 制备姜黄素自微乳化浓缩液，考察微乳的形态和粒径分布，比较姜黄素微乳与胶束的吸收动力学，考察姜黄素微乳在小肠的最佳吸收及口服姜黄素自微乳化浓缩液在胃肠道的吸收情况。**方法** 采用大鼠在体小肠段回流试验，根据药物在小肠段中的减少量来确定药物的吸收。取出小鼠胃肠道中所有内容物及粪便，提取未被吸收的姜黄素，计算姜黄素的吸收率。**结果** 透射电镜下姜黄素微乳成球形或近球形，平均粒径为 21.6 nm。姜黄素微乳与胶束的吸收速率常数分别为 0.042 5、0.019 5/h，姜黄素微乳的主要吸收部位为十二指肠和空肠。姜黄素自微乳化浓缩液在小鼠胃肠道的吸收率是姜黄素原料药的 2.5 倍。**结论** 姜黄素自微乳化浓缩液能有效提高姜黄素在动物体内的吸收。

关键词：姜黄素；自微乳化；在体小肠吸收

中图分类号：R286.02 **文献标识码：**A **文章编号：**0253-2670(2007)03-0368-05

Absorption of curcumin microemulsion *in vivo*

CUI Jing[1,2], ZHAI Guang-xi[1], ZHAO Yu[1], LOU Hong-xiang[1]

(1. Institute of Pharmacy, College of Pharmaceutical Science, Shandong University, Jinan 250012, China;
2. Department of Pharmacy, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China)

收稿日期：2006-03-31
基金项目：山东省科技发展计划资助项目(2006GG22020563)
作者简介：崔晶(1980—)，女，山东济南人，硕士，药师，从事药物制剂与临床药学研究。E-mail：cccjjjrrr@sina.com
*通讯作者 翟光喜 Tel：(0531)6820872 E-mail：zkyjd@sdu.edu.cn

Abstract: **Objective** To prepare the curcumin self-microemulsion, observe the morphology and size diameter distribution of the microemulsion, and compare the absorption kinetics of curcumin microemulsion and micelle. To investigate the best absorption segment of curcumin microemulsion in intestnum tenue and the absorption of curcumin self-microemulsion in mouse gastrointestinal tract. **Methods** The intestine in rats was cannulated *in situ* recirculation. The absorption of curcumin microemulsion was calculated by its decrement in intestnum tenue. The inabsorbable curcumin in all content together with feces in mouse gastrointestinal tract was obtained and used to calculate the absorption rate of curcumin. **Results** The curcumin microemulsion presented as small spherical drops or something similar under transmission electron microscope (TEM) with the average diameter of about 21.6 nm. The absorption constants of curcumin microemulsion and micelle was 0.042 5 and 0.019 5 /h, the main segments of curcumin microemulsion absorption were intestinum duodenum and intestinum jejunum. The absorption rate of curcumin self-microemulsion was 2.5 times as much as curcumin. **Conclusion** The curcumin self-microemulsion could improve the absorption of curcumin *in vivo* in animal evidently.

Key words: curcumin; self-microemulsion; *in situ* absorption in intestnum tenue

姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄、莪术、郁金等的根茎中提取的有效成分，具有抗肿瘤、抗炎、抗HIV、抗菌、抗氧化等多种药理作用，且毒性很低，具有良好的临床应用潜力[1]。但姜黄素存在水中溶解度小，口服吸收差的缺点[2]。自微乳化制剂口服进入体内后，在胃肠液和胃肠蠕动的作用下可自发形成微乳，其作为口服药物载体，可以增加疏水性药物的溶解度，促进胃肠道吸收[3,4]。因此本实验研制了姜黄素自微乳化浓缩液，并进行了动物在体吸收研究。

1 仪器与材料

RCT bisic 可控温电磁搅拌器（KIKA WERKE）；JA2003 电子天平（上海天平仪器厂）；JEM—100CX Ⅰ 透射电镜（日本电子公司）；N5 亚微粒粒径分析仪（Beckman Coulter, Inc, 英国）；BT00—100M 型蠕动泵（保定兰格恒流泵有限公司）；UV—2102PCS 型紫外分光光度计（尤尼柯仪器有限公司）；LC—10AT 高效液相色谱仪（日本岛津公司）。

姜黄素（对照品，质量分数≥99.0%；原料药，质量分数≥98%，均由山东大学药学院天然药化教研室提供）；乳化剂聚乙二醇辛基苯基醚（OP，天津市广成化学试剂有限公司）；油酸乙酯（上海化学试剂公司）；PEG400（天津石英钟厂霸州市化工分厂）。

SD 雄性大鼠，体重约 200 g，合格证号：SCSK20030004；昆明种雄性小鼠，体重约 20 g，合格证号：SCSK20030004，均由山东大学实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 空白微乳浓缩液和姜黄素微乳浓缩液的制备：称取乳化剂 OP 30 g，PEG400 10 g，油酸乙酯 1.6 g，搅拌混合均匀，即得空白自微乳化浓缩液。

将 0.3 g 姜黄素加入空白自微乳化浓缩液中，超声使药物溶解，即得姜黄素自微乳化浓缩液。

2.2 形态学与粒径分布：将姜黄素自微乳化浓缩液溶于适量蒸馏水，得澄清透明的微乳液。将姜黄素微乳液滴在铜网上，用 2%的磷钨酸（pH 4.47）负染色，晾干后电镜观察，见图 1。结果表明微乳在电镜下均呈圆球形，内部为油相。将姜黄素自微乳化浓缩液稀释适当倍数后用粒径分析仪测定平均粒径及粒径分布，见图 2。测得平均粒径为 21.6 nm。

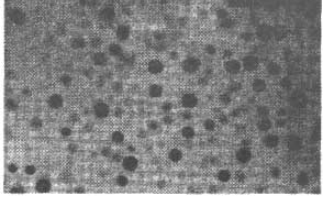

图 1 姜黄素微乳液透射电镜照片

Fig. 1 Photo of curcumin microemulsion under TEM

2.3 大鼠在体肠循环试验

2.3.1 姜黄素的紫外分光光度法测定[5]：检测波长的确定：将姜黄素对照品、含姜黄素微乳的肠循环液（在大鼠体内肠循环 6 h 的 K-R 营养液）和含空白微乳的肠循环液，配成适当质量浓度的 50%乙醇溶液，在 200～600 nm 波长扫描，其中姜黄素对照品溶液和含姜黄素微乳的肠循环液在 432 nm 波长处有最大吸收，空白微乳的肠循环液在 432 nm 波长处无吸收，故选择 432 nm 作为检测波长。

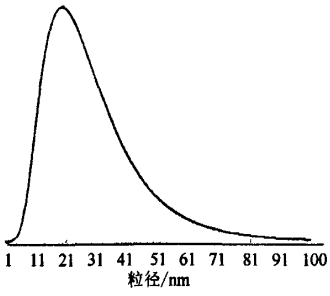

图 2 姜黄素微乳液粒径分布

Fig. 2 Particle size diameter distribution of curcumin microemulsion

标准曲线的制备：精密称取干燥至恒重的姜黄素对照品 10.0 mg，用 50%乙醇配成 0.75、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 μg/mL 对照品溶液，于 432 nm 处测定吸光度。以质量浓度对吸光度进行线性回归，得标准曲线 $A = 0.159\ 618\ C - 0.004\ 850$，$r = 0.999\ 9$。

姜黄素微乳供试品溶液的配制：取一定量的姜黄素自微乳化浓缩液（大鼠给药剂量为 0.7 g/100 g 体重，即给予姜黄素 5 mg/100 g 体重）用 K-R 营养液溶解并定容至 100 mL。

姜黄素混合胶束供试品溶液的配制：取处方量的乳化剂 OP 和 PEG400，溶解药物后，用 K-R 营养液定容至 100 mL。

测定：取供试液稀释适当倍数，测定吸光度值，带入标准曲线，计算姜黄素的质量浓度。

2.3.2 姜黄素在空白肠循环液中的稳定性[6,7]：取一定量 K-R 营养液，按照大鼠在体肠循环的实验方法，回流 6 h 得空白肠循环液。取姜黄素自微乳化浓缩液 1.5 g，用空白肠循环液定容至 100 mL，37 ℃温水浴中孵育 6 h，分别测定 0、6 h 的姜黄素质量浓度。姜黄素在循环液中的质量浓度没有明显变化，为 0 h 的(99.11±0.63)%（$n=6$），故认为姜黄素在空白肠循环液中稳定。

2.3.3 肠壁物理吸附的影响[6,7]：剪取清洗后的空白小肠段约 10 cm（共 3 段），用玻璃棒将黏膜层翻出，置于 100 mL 已知质量浓度的姜黄素溶液中，在 37 ℃水浴中孵育 2 h，取出肠段，测得孵育液的姜黄素质量浓度为原质量浓度的(98.9±0.48)%，故认为大鼠小肠壁对药物基本没有物理吸附。

2.3.4 大鼠小肠吸收动力学[8]：雄性大鼠禁食 12 h（体重约 200 g），可自由饮水。ip 1%戊巴比妥钠（0.4 mL/100 g）麻醉并固定。沿腹中线打开腹腔约 3 cm，自十二指肠上部及回肠下部各插入直径为 0.5 cm 的玻璃管，用线扎紧，用 37 ℃生理盐水将小肠内容物冲洗干净，将两玻璃管与恒流泵连接。取 100 mL 供试液（K-R 营养液含姜黄素 5 mg/100 g 体重）置于 100 mL 量筒中，恒温(37±0.5)℃，打开蠕动泵，以 5 mL/min 的流速循环，待药液充满整个回路，记录量筒中减少的药液体积，作为回路中药液体积，10 min 后调速至 2.5 mL/min，自烧杯中取样 1 mL 为药物 0 时间样品，记录量筒中药液体积，补加 2 mL K-R 营养液，后于 0.25、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3、3.5、4、5、6 h 取样 1 mL 并记录量筒中药液体积，同时补加 K-R 营养液。

各样液用 50%乙醇稀释适当倍数后，测定姜黄素质量浓度，计算各时间点的剩余药量（X_1）。以 X_1 值的对数和取样时间 t 作图（图 3）。利用公式 $\ln X_1 = \ln X_0 - Ka \cdot t$，求出表观吸收速率常数 Ka、吸收半衰期 $t_{1/2}$。结果姜黄素胶束溶液和姜黄素微乳液在大鼠小肠的 Ka 分别为 0.019 5、0.042 5 /h，$t_{1/2}$ 分别 35.54、16.31 h，相关系数分别为 0.948 1、0.958 5。故二者的吸收呈一级动力学，吸收机制可能为被动扩散，二者的 Ka，$t_{1/2}$ 值均存在显著性差异（$P<0.01$），姜黄素微乳液的吸收速率大于姜黄素胶束溶液。

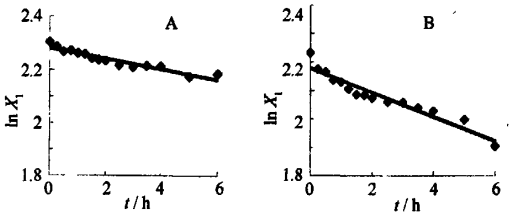

图 3 姜黄素胶束溶液（A）和姜黄素微乳液（B）大鼠小肠在体吸收曲线

Fig. 3 Absorption curve of curcumin micellar solution (A) and curcumin microemulsion (B) in *in situ* intestinum tenue of rat

2.3.5 姜黄素微乳大鼠小肠最佳吸收部位研究[9]：选择所需要考察的肠段，进行结扎。十二指肠段自幽门 1 cm 处开始，空肠段离幽门 15 cm 处开始，回肠段距离盲肠 20 cm 处开始，结肠段为紧邻盲肠段至直肠，各段均取 10 cm 左右。在各肠段两端剪切后插管，结扎，用少量 37 ℃的生理盐水冲洗肠段。然后用姜黄素微乳液 25 mL（每只大鼠的给药量为 5 mg/100 g 体重）回流 2 h，体积流量 2.5 mL/min。结束后，将所得回流液移入 100 mL 量瓶中，另用 K-R 营养液冲洗肠道，冲洗液并入量瓶，用 K-R 营养液定容，混匀，滤过，弃去初滤液，取续滤液用 50%

乙醇稀释适当倍数后测定质量浓度，计算回流前后回流液中姜黄素减少率。

姜黄素微乳在大鼠不同肠段回流 2 h 的吸收结果显示姜黄素微乳在整个小肠段都有吸收，十二指肠、空肠、回肠、结肠的吸收率分别为(37.97±2.10)%、(34.33±2.53)%、(20.60±5.96)%、(9.80±0.95)%，可见十二指肠、空肠为姜黄素微乳的主要吸收部位，结肠吸收少。

2.4 姜黄素微乳的小鼠体内吸收试验

2.4.1 试验方法：昆明种雄性小鼠 75 只，体重为 20 g 左右，随机分为 2 组。将以上小鼠给药前禁食 12 h，自由饮水。分别 ig 给予姜黄素原料药和姜黄素自微乳化浓缩液(给药剂量为 50 mg/kg)，给药后于 2、4、6、8、10、12、24 h 分别处死小鼠(n=5)，立即取出自食管下端至肛门的内容物，并用甲醇清洗管壁，同时收集 0 时刻到取样点的所有粪样，合并，处理后进行测定。

2.4.2 样品处理：取胃肠道内容物和粪样的混合物，加入甲醇约 80 mL，超声提取 1 h 后，滤过，用甲醇洗涤残渣并定容至 100 mL，取 20 μL 进行 HPLC 法测定。

2.4.3 色谱条件：采用高效液相色谱法，色谱柱：Phenomenex-C_{18}柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇-水(含 3.6%冰醋酸)(73∶27)；体积流量：1 mL/min；检测波长：428 nm；进样 20 μL；柱温：室温。

2.4.4 方法可行性考察：分别取空白内容物及粪便处理液、姜黄素对照品溶液和供试品溶液，进样，在上述色谱条件下测定，色谱图分别见图 4。可见，姜黄素对照品贮备液在约 7.5 min 处出峰，供试品溶液的主峰保留时间与对照品一致，其他共存组分无干扰。

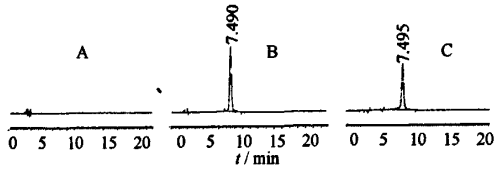

图 4 空白内容物及粪便处理液(A)、姜黄素对照品溶液(B)和供试品溶液(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC Chromatogram of blank solution in all content together with feces (A), reference substance solution of curcumin (B), and sample solution (C)

2.4.5 标准曲线的建立：在空白胃肠道内容物和粪样的混合物中加入相当于 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、1.5 mg 姜黄素对照品溶液，处理，得质量浓度为 0.5、1、2、5、10、15 μg/mL 的溶液，进样 20 μL，以峰面积对血药浓度回归，得标准曲线 A=61 720 C−4 257.1，r=0.999 1。

2.4.6 精密度试验：取空白胃肠道内容物和粪样的混合物，分别配制姜黄素 0.5、5.0、15 μg/mL 样品，处理，于 1 d 内分别测定姜黄素峰面积 5 次，计算日内 RSD，结果 RSD 分别为 2.97%、1.42%、3.15%；同法每日测定姜黄素峰面积 1 次，连续测定 5 d，计算日间 RSD，结果 RSD 分别为 2.23%、1.22%、2.87%。

2.4.7 回收率试验：取空白胃肠道内容物和粪样的混合物，分别配制姜黄素 0.5、5.0、15 μg/mL 样品溶液，处理，以样品溶液测得值与加入量的比值计算回收率，结果姜黄素的平均回收率为分别为 87.9%、87.5%、94.0%(n=3)，可知该方法回收率符合要求。

2.4.8 结果：测定给药量(X_2)和各时间点小鼠胃肠道及粪便中剩余的药物量(X_1)，利用公式：吸收率=(X_2−X_1)/X_2×100%求得药物的吸收率，见表 1。姜黄素自微乳化浓缩液与姜黄素原料药在各时间点的吸收率均存在显著性差异(P<0.01)，姜黄素自微乳化浓缩液的吸收率明显大于姜黄素原料药。

表 1 药物在小鼠体内的吸收情况(n=5)

Table 1 Absorption of curcumin and curcumin micromulsion in mice *in vivo* (n=5)

时间/h	吸收率/%	
	姜黄素原料药	姜黄素自微乳化浓缩液
2	14.98±3.49	35.41±2.95
4	23.17±3.71	63.41±2.20
6	27.10±2.26	78.17±0.84
8	29.10±5.40	85.73±1.01
10	34.86±5.43	89.87±0.22
12	34.50±3.12	92.67±0.07
24	36.38±2.05	92.39±0.10

3 讨论

本实验制备的姜黄素自微乳化浓缩液对姜黄素有显著的增溶作用，在胃肠道中自乳化，形成平均粒径为 21.6 nm 的微乳，属纳米制剂，纳米制剂的黏附性可使乳滴较长时间地与胃肠道黏膜紧密接触，因此可促进药物在胃肠道黏膜的跨膜转运。

大鼠在体肠循环试验的供试品溶液中多加入酚红，利用酚红浓度的变化确定不同时刻供试品溶液的体积[7]。但有文献报道[10]，酚红在小肠部分吸收，导致特定药物，尤其是难吸收药物计算出的吸收速

率偏小，故本实验采用直接读取体积的方法计算剩余药量，该方法误差小于 2%。

由于口服姜黄素吸收进入体内存在生物转化（与葡萄糖醛酸、硫酸结合，还原为四氢姜黄素和六氢姜黄素），血中原型药物浓度极低（小于 2 ng/mL）[11]，而其代谢产物种类较多，且许多代谢产物无法测定，故无法采用测定血药浓度的方法计算姜黄素的生物利用度。本实验通过测定胃肠道及粪便中未被吸收的姜黄素直接推算姜黄素的吸收量，方法直接、简单，结果较准确地反映了药物的吸收情况[12]。

大鼠小肠吸收动力学试验比较了姜黄素微乳与胶束溶液的吸收特性，由表观吸收速率常数可知微乳与胶束相比能更好的促进药物的吸收。可能是由于微乳表面张力较低，更易于通过胃肠壁的水化层，使药物能直接和胃肠上皮细胞接触，促进药物的吸收[13]。小鼠体内吸收试验结果证明，姜黄素自微乳化浓缩液的吸收率比姜黄素提高了 1.5 倍，显著增加姜黄素的口服吸收，显示了微乳作为难溶性药物口服给药载体的优越性。

References:

[1] Araujo C C, Leon L L. Biological activities of *Curcuma longa* L. [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2001, 96(5): 723-728.

[2] Pan M H, Huang T M, Lin J K, *et al*. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice [J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27(4): 486-494.

[3] Kang B K, Lee J S, Chon S K, *et al*. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in Beagle dogs [J]. *Int J Pharm*, 2004, 274(1): 65-73.

[4] Yang S, Gursoy R N, Lambert G, *et al*. Enhanced oral absorption of paclitaxel in a novel self-microemulsifying drug delivery system with or without concomitant use of P-glycoprotein inhibitors [J]. *Pharm Res*, 2004, 21(2): 261-270.

[5] Cui J, Zhai G X, Lou H X. Study on preparation and characteristics of curcumin microemulsion [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2005, 40(24): 1877-1880.

[6] Ren X Z, Zhang J S, Wang H B. Studies of absorption mechanism and the best absorption segment of erythromycin in situ [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1997, 28(1): 17-22.

[7] Yuan Q, Li X R, Wang H J, *et al*. The absorption kinetics of silymarin microemulsion in rat intestine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2004, 39(8): 631-634.

[8] Liao Z G, Ping Q N, Xiao W, *et al*. The study in situ on rat intestinal absorption of the active components in Guizhi Fuling Capsule [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2005, 3(5): 303-307.

[9] Gao S, Zhong Y Q, Yin D F, *et al*. The absorption study on rat intestinal of famotidine [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2000, 21(10): 913-916.

[10] Hu Y Q, Zheng L Y, Qian C Q, *et al*. Absorption of phenol red from rat intestine [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1996, 27(6): 355-359.

[11] Asai A, Miyazawa. Occurrence of orally administered curcuminoid as glucuronide and glucuronidesulfate conjugates in rat plasma [J]. *Life Sci*, 2000, 67: 2785-2793.

[12] Wahlstrom B, Blennow G. A study on the fate of curcumin in the rat [J]. *Acta Pharmacol Toxicol*, 1978, 43 (2): 86-92.

[13] Zhang Z Q, Lu B. Advance in microemulsions as a vehicle of drug delivery system [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2001, 32(3), 139-142.

决明子饮片的 HPLC 指纹图谱研究

张 萍，陈建伟*

（南京中医药大学，江苏 南京 210046）

摘 要：目的 建立决明子饮片的 HPLC 指纹图谱鉴定方法。**方法** 采用 RP-HPLC 法，梯度洗脱，研究决明子饮片的指纹图谱，并作相似度比较分析。**结果** 初步建立了决明子饮片的指纹图谱。**结论** 采用 HPLC 指纹图谱法可作为决明子饮片的一项质控指标。

关键词：决明子；指纹图谱；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 **文献标识码：**B **文章编号：**0253-2670(2007)03-0372-04

HPLC Fingerprint of *Semen Cassiae*

ZHANG Ping, CHEN Jian-wei

(Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

收稿日期：2006-04-13

基金项目：国家“十五”重大科技专项“创新药物和中药现代化”课题(2001BA701A55-41)

作者简介：张萍(1983—)，女，江苏如皋人，南京中医药大学 2004 级硕士研究生，研究方向为中药品质品价。Email: Zhanpianzi2004@126.com

*通迅作者 陈建伟