

姜黄素维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯-聚乙二醇硬脂酸酯 15 胶束对姜黄素溶解度和口服生物利用度的影响

童晓东¹, 范永春², 严 玮^{1*}

1. 南通市中医院, 江苏 南通 226001

2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028

摘要: 目的 以维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯 (VE-TPGS) 和聚乙二醇硬脂酸酯 15 (Solutol HS 15, SHS15) 为载体制备姜黄素胶束, 并研究该胶束对姜黄素溶解度和口服生物利用度的影响。方法 采用薄膜分散法制备姜黄素胶束; 通过胶束平均粒径、载药量、包封率等指标表征该胶束, 同时测定姜黄素的溶解度; 通过体外释放考察该胶束的释放特性; 进一步通过大鼠实验评估胶束对姜黄素口服生物利用度的影响。结果 当 VE-TPGS 与 SHS15 加入质量比为 3:7 时, 胶束粒径为 (35.79 ± 1.23) nm, 多分散性指数 (PDI) 为 0.12 ± 0.03 ; 在该条件下, 胶束的载药量和包封率分别为 9.34% 和 90.03%, 姜黄素的溶解度达到 2.03 mg/mL; 体外释放实验中, 胶束组较姜黄素组有缓慢释放特性; 大鼠口服生物利用度实验中, 胶束组较姜黄素组的相对生物利用度提高到 303.5% ($P < 0.01$)。结论 本实验制备的胶束不仅有较好的缓释特性, 还提高了姜黄素的溶解度和口服生物利用度。利用药物-胶束体系来改善难溶性药物的溶解度, 具有较高的临床应用潜力。

关键词: 姜黄素; 维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯; 聚乙二醇硬脂酸酯 15; 溶解度; 口服生物利用度; 胶束; 薄膜分散法; 载药量; 包封率; 体外释放

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)05-0902-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.05.010

Effect of curcumin-micelles adopting vitamin E-TPGS and Solutol HS 15 as carriers on solubility and oral bioavailability of curcumin

TONG Xiao-dong¹, FAN Yong-chun², YAN Wei¹

1. Nantong Traditional Chinese Hospital, Nantong 226001, China

2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract: Objective To prepare curcumin-micelles adopting vitamin E-TPGS (VE-TPGS) and Solutol HS15 (SHS15) as carriers, and study the effect on solubility and oral bioavailability of curcumin (Cur). **Methods** Cur was loaded into micelles between VE-TPGS and SHS15 by thin film dispersion method. Particle size, loading efficiency, entrapment efficiency, and *in vitro* release were carried on to estimate the influence of micelles on Cur; Moreover, oral bioavailability in rats was also evaluated. **Results** The particle size was (35.79 ± 1.23) nm with polydispersity index (PDI) of 0.12 ± 0.03 when the optimized micelles ratio was at 3:7 of VE-TPGS and SHS15, which increased the solubility of Cur to 2.03 mg/mL in water. The entrapment efficiency and drug loading were 90.03% and 9.34%, respectively. The *in vitro* release profile showed a sustained release property compared with that of Cur. In addition, the relative bioavailability of micelles ($AUC_{0-\infty}$) compared with that of Cur ($AUC_{0-\infty}$) was 303.5% ($P < 0.01$). **Conclusion** The Cur-micelles combined use of VE-TPGS and SHS15 shows great potential clinical application.

Key words: curcumin; vitamin E-TPGS; Solutol HS 15; solubility; oral bioavailability; micelle; thin film dispersion method; loading efficiency; entrapment efficiency; *in vitro* release

姜黄素 (curcumin) 是一种从姜科植物姜黄等的根茎中提取得到的黄色色素。研究表明其不仅有抗炎^[1]、抗氧化^[2]、抑菌^[3]和预防肿瘤等广泛的药理作

用^[4-7], 还被用于食品补充剂^[8]。但姜黄素较低的口服生物利用度严重限制了其应用前景^[9-10], 而低溶解度 ($2.677 \mu\text{g/mL}$)^[11]是导致低生物利用度的重要

收稿日期: 2016-09-27

作者简介: 童晓东, 副主任中医师。Tel: (0513)85126140 E-mail: tongtiany@sina.cn

*通信作者 严 玮, 副主任中医师。Tel: (0513)85126140 E-mail: cjy.wei@qq.com

原因之一。针对其溶解度低的缺陷,研究者尝试采用多种制剂学方法改善其溶解性^[12-14]。近来研究表明将姜黄素制备成胶束体系能够增加药物的口服吸收,提高其药效^[15-16]。

维生素E聚乙二醇琥珀酸酯(VE-TPGS)是由聚乙二醇(PEG)和维生素E琥珀酸经酯化反应而得。作为一种非离子型表面活性剂,它具有极好的表面活性,还能够对磷脂膜产生影响,这使其能够以不同方式溶解水溶性和水不溶性药物^[17]。在纳米制剂中,它还被经常用于构成药物传递系统,以获得更好的吸收^[18]。聚乙二醇硬脂酸酯15(Solutol HS 15, SHS15)因其结构具有极好的生物相容性,被用于制备姜黄素固体分散体^[19],还能够增加药物的膜渗透性^[20]。本实验综合利用上述辅料的特性,利用薄膜分散法^[21]制备姜黄素胶束,对胶束的物理特性进行表征,进而通过大鼠实验研究该胶束对姜黄素口服生物利用度的影响,为姜黄素更广泛的应用奠定基础。

1 仪器与材料

Waters HPLC, 四元泵, Waters 2695 separations module, Waters 2996PDA 检测器, 美国 Waters 公司; Milli-Q 纯化水装置, 美国 Millipore 公司; KS 3000 i control 摇床, 德国 IKA 公司; Malvern ZE S.A. 马尔文粒径测定仪, 英国 Worcestershire 公司; JEM-200CX 透射电镜, 日本 NEC 公司; AT201 十万分之一电子天平, 瑞士 Mettler-Toledo 公司。

姜黄素, 批号 8239402, 质量分数>97%, 大连美仑生物科技有限公司; 大黄素, 质量分数>98%, 批号 110755-200110, 中国食品药品检定研究院; VE-TPGS, Sigma 公司; SHS15, 巴斯夫中国有限公司上海分公司; 甲醇和乙腈为色谱纯; 其余试剂皆为分析纯。SD 雄性大鼠, 体质量 220~230 g, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证编号 SCXK(京)2013-0015。

2 方法与结果

2.1 姜黄素胶束的制备^[22]

称取不同比例的辅料(VE-TPGS 和 SHS15)置于 10 mL 烧杯中, 加入 95%乙醇 5 mL, 溶解搅拌至澄清透明, 再次加入姜黄素适量, 搅拌至溶解完全, 65 °C 旋转蒸发溶剂后, 再次加入 2 mL 去离子水复溶, 搅拌均匀所得液体即为姜黄素胶束。

2.2 姜黄素胶束粒径的测定

利用马尔文粒径测定仪测定姜黄素胶束的粒

径。25 °C 下将样品装入测定器皿中平衡 5 min 再进行测定。结果用 3 次测定的平均值来表示, 用多分散性指数(PDI)来表示胶束粒径分布情况。当 VE-TPGS-SHS15 质量比为 3:7 时, 姜黄素胶束粒径测定结果见图 1, 平均粒径为 (35.79 ± 1.23) nm。

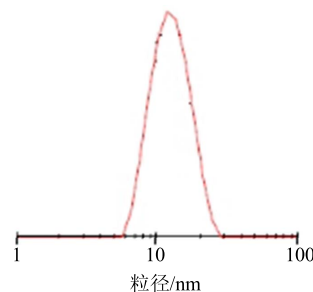


图1 动态光散射法测定姜黄素胶束粒径分布图

Fig. 1 Size distribution of Cur-micelles in dynamic light scattering

2.3 姜黄素胶束透射电镜(TEM)观察

通过 TEM 来表征姜黄素胶束的形态。将姜黄素胶束液体滴到碳涂层的铜网格上, 再将铜网放置在红外线下照射 5 min 干燥液滴, 将干燥好样品置于 TEM 下, 拍出图片。当 VE-TPGS-SHS15 质量比为 3:7 时, 姜黄素胶束 TEM 图见图 2, 图中显示该胶束类似圆形, 可能与胶束制备过程中, VE-TPGS 和 SHS15 中亲水、疏水基团与溶剂间的相互作用力有关。

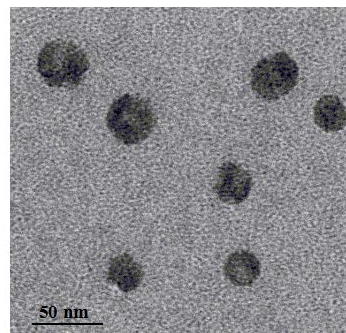


图2 姜黄素胶束的 TEM 图

Fig. 2 TEM images of curcumin-micelles

2.4 姜黄素胶束载药量和包封率的测定^[23]

2.4.1 色谱条件 Thermo C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温为 35 °C; 流动相为乙腈-0.01 g/mL 柠檬酸(51:49); 进样体积为 20 μL; 检测波长为 423 nm; 体积流量为 1.0 mL/min。

2.4.2 载药量和包封率的测定 将姜黄素胶束透过 0.45 μm 的微孔滤膜, 精密吸取 0.1 mL 滤液, 再次加入适量乙腈稀释已破坏的胶束。按“2.4.1”项下

方法测定姜黄素量, 载药量和包封率按照以下公式进行计算。

$$\text{载药量} = W_0/W$$

$$\text{包封率} = W_0/W_1$$

W_0 为包封在胶束中姜黄素的质量, W 为姜黄素胶束的质量, W_1 为体系中加入的姜黄素的质量

不同质量比的 VE-TPGS 和 SHS15 制备姜黄素胶束各项测定结果见表 1, 当 VE-TPGS-SHS15 质量比为 3:7 时, 该胶束有最佳的粒径(35.79 ± 1.23) nm, 其包封率达到 (90.03 ± 10.38) %, 载药量为 (9.34 ± 2.35) %, 在该条件下姜黄素的溶解度为

(2.03 ± 0.53) mg/mL。随着 VE-TPGS 加入量的增加, 胶束的包封率和载药量呈相应的上升趋势, 但当 VE-TPGS-SHS15 质量比为 4:6 时, 胶束包封率、载药量和溶解度不再增加。

2.5 姜黄素胶束的体外释放

透析法被用于测定该胶束的体外释放。分别将 1 mL 的姜黄素胶束溶液和含等质量姜黄素的溶液加至透析袋中, 新鲜配制 200 mL 37 °C pH 值为 6.8 的释放介质, 并在其中加入 5 mg/mL 十二烷基磺酸钠 (SDS), 整个实验过程均满足漏槽条件。分别在 5、30 min 及 1、2、3、5、8、12、24、48 h 精密吸

表 1 不同比例的 VE-TPGS 和 SHS15 制备姜黄素胶束各项指标测定数据

Table 1 Characteristics of Cur-micelles at different ratios of VE-TPGS and SHS15

VE-TPGS-SHS15 质量比	平均粒径/nm	包封率/%	载药量/%	溶解度/(mg·mL ⁻¹)
1:9	50.99±3.42	85.65±10.24	8.47±2.36	1.69±0.65
2:8	65.84±5.47	89.34±7.98	8.53±2.45	1.78±0.34
3:7	35.79±1.23	90.03±10.38	9.34±2.35	2.03±0.53
4:6	61.36±5.14	89.97±7.56	9.04±3.42	1.85±0.82

取 500 μL 透析液, 并立即加入等体积的空白介质。透析液过 0.45 μm 滤膜后按“2.4.1”项下方法测定姜黄素量, 并以时间为横坐标, 姜黄素的累积释放率为纵坐标作图, 得到释放曲线。姜黄素和姜黄素胶束的释放结果见图 3, 在前 3 h 内, 姜黄素组共释放出 (35.00 ± 3.42) %, 表现出突释效应, 而姜黄素胶束组释放则较为缓慢。48 h 内姜黄素组累积释放出 (67.23 ± 2.34) %, 姜黄素胶束组累积释放出 (39.35 ± 1.38) %。因此, 姜黄素胶束较姜黄素具有缓释特性。

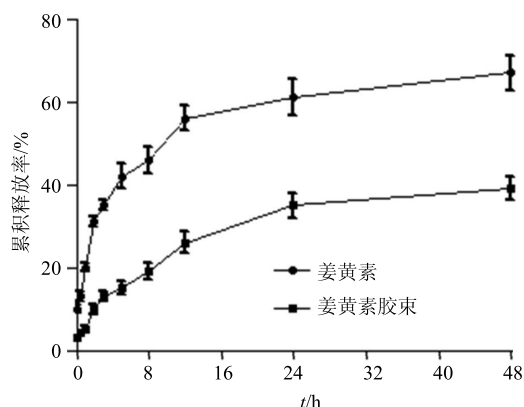


图 3 姜黄素和姜黄素胶束在 pH 6.8、37 °C 溶出介质中的释放曲线 ($n=3$)

Fig. 3 *In vitro* release profiles of Cur and Cur-micelles in simulated intestinal medium with pH of 6.8 at 37 °C ($n=3$)

2.6 姜黄素胶束的口服生物利用度实验

2.6.1 血浆样品的制备 取 SD 雄性大鼠 12 只, 体重 220~230 g, 随机分成 2 组, 分别为姜黄素原料药组和姜黄素胶束组, 每组 6 只。实验前禁食 12 h, 自由饮水。实验前大鼠称体质量, 以 80 mg/kg 姜黄素的剂量 ig 上述 2 组药物。分别在给药 5、15、30、45 min 及 1、2、3、5、8、10、12、24 h 眼眶取血 0.5 mL, 置肝素化离心管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 分离取血浆, 置 -20 °C 冰箱中保存。

2.6.2 血浆样品的处理 吸取血浆样品 100 μL 置离心管中, 10 mg/L 姜黄素内标溶液 10 μL, 涡旋 10 s, 加甲醇 500 μL, 涡旋 5 min 后, 15 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 氮气吹干, 加乙腈-水 (1:1) 100 μL 复溶, 3 500 r/min 离心 5 min, 取上清液贮存, 待测。

2.6.3 数据分析 药动学参数 (AUC_{0-24h} 、 $t_{1/2}$ 等) 可从 DAS 2.1.1 软件中分析得到。实验中方差分析皆使用 SPSS 16.0 数据分析软件。

大鼠 ig 药物后姜黄素药时曲线和药动学参数结果分别见图 4 和表 2, 姜黄素组在 0.64 h 达到最大血药浓度 (C_{max}), C_{max} 为 0.73 μg/mL, 而姜黄素胶束组在 0.75 h 达到最大血药浓度, C_{max} 为 2.58 μg/mL ($P<0.01$)。该胶束使得姜黄素的相对生物利用度较姜黄素组提高到了 303.5% ($P<0.01$)。这

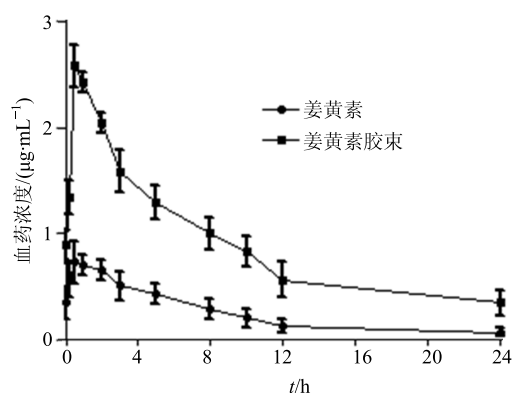


图 4 大鼠 ig 姜黄素和姜黄素胶束 (姜黄素 80 mg/kg) 后姜黄素的药时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Concentration-time curves of Cur in rats after oral administration of Cur and Cur-micelles (80 mg/kg, Cur) ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 2 姜黄素和姜黄素胶束的药动学参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of Cur and Cur-micelles

参数	单位	姜黄素	姜黄素胶束
$C_{\max}$	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.73 ± 0.22	$2.58 \pm 1.02^{**}$
$t_{\max}$	h	0.64 ± 0.34	0.75 ± 0.14
$AUC_{0-24\text{ h}}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	18.45 ± 8.12	$48.93 \pm 11.36^*$
$AUC_{0-\infty}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	59.63 ± 13.45	$180.97 \pm 30.69^{**}$
$t_{1/2}$	h	2.64 ± 0.48	$4.31 \pm 1.23^*$
$MRT_{0-\infty}$	h	6.92 ± 1.37	5.83 ± 1.54

与姜黄素比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Cur

可能与姜黄素溶解度的提高有关。姜黄素胶束缓慢释放的特性使得其 $t_{1/2}$ 较姜黄素组有所提高 (4.31 h vs 2.64 h, $P < 0.05$), 这使得胶束中姜黄素能够在更长的时间内发挥其药理作用。

3 讨论

低溶解度是限制药物发挥药理作用主要因素之一, 虽然姜黄素有着广泛的药理作用, 但其低溶解度严重限制了其临床应用^[10]。本实验以 VE-TPGS 和 SHS15 为载体制备的姜黄素胶束具有粒径小, 载药量和包封率较高, 同时该胶束能够显著提高姜黄素的溶解度和口服生物利用度。将药物制备成胶束, 胶束的壳核结构能够避免药物进入血液循环被快速的清除, 延长药物的作用时间^[24]。载体中的 VE-TPGS 也被报道用于制备醇质体^[25]。SHS15 因其毒性低, 增溶效果好已被德国和美国药典收入。SHS15 还被用于增加难溶性药物非诺贝特的溶出速率^[26]。

据文献报道, 目前解决姜黄素溶解度低的难题, 主要采用固体分散体、微乳、纳米粒等新型制剂技术^[27-28], 但是上述方法制备较为复杂, 且微乳制备过程中需要大量表面活性剂, 而表面活性剂的毒性问题也将给制剂带来安全问题。本实验成功地将 VE-TPGS 与 SHS15 组合构建姜黄素混合胶束体系, 为解决药物低溶解度的难题提供了新的思路。

参考文献

- [1] 姜程曦, 吴亮, 吴洁, 等. 姜黄素类似物抑制 ERK/JNK 以及 NF- κ B 信号通路发挥抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2871-2876.
- [2] 李军, 熊琨, 龚元, 等. 基于信号转导通路的姜黄素抗氧化机制研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2373-2380.
- [3] 张梦翔, 施高翔, 严园园, 等. 姜黄素对 5 种非白念珠菌菌丝及生物膜形成的抑制作用 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 549-553.
- [4] Aggarwal B B. Targeting inflammation-induced obesity and metabolic diseases by curcumin and other nutraceuticals [J]. *Annu Rev Nutr*, 2010, 30(1): 173-199.
- [5] Shin S, Ha T, McGregor R, et al. Longterm curcumin administration protects against atherosclerosis via hepatic regulation of lipoprotein cholesterol metabolism [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55(12): 1829-1840.
- [6] Bar-Sela G, Epelbaum R, Schaffer M. Curcumin as an anti-cancer agent: review of the gap between basic and clinical applications [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(3): 190-197.
- [7] 罗廷顺, 李洪文, 刘正文, 等. 姜黄素的提取分离与药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 102-107.
- [8] Sharma R, Gescher A, Steward W. Curcumin: the story so far [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(13): 1955-1968.
- [9] 刘碧林, 石明芯, 朱照静, 等. 星点设计-效应面法优化姜黄素正负离子纳米结构脂质载体处方 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3401-3406.
- [10] 李纳, 汤丹丹, 王丽雯, 等. 喷雾干燥法制备姜黄素磷脂复合物壳聚糖微球干粉吸入剂及其表征 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2475-2481.
- [11] Modasiya M K, Patel V M. Studies on solubility of curcumin [J]. *Int J Pharm Life Sci*, 2012, 3(3): 1490-1497.
- [12] 葛云龙, 赵修华, 祖元刚, 等. 姜黄素纳米粒冻干粉的反溶剂法制备工艺优化及溶出特征 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2447-2453.
- [13] 何黎黎, 袁志翔, 郑云, 等. 姜黄素-介孔二氧化硅纳米粒固体分散体的制备与表征 [J]. 中草药, 2016,

- 47(13): 2283-2287.
- [14] 柯秀梅, 杨荣平, 郭响香, 等. 自乳化释药系统 (SEDDS) 对姜黄素类组分增溶作用的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 935-941.
- [15] Krassimira Y, Katya K, Teodora P, *et al.* Cationic triblock copolymer micelles enhance antioxidant activity, intracellular uptake and cytotoxicity of curcumin [J]. *Int J Pharm*, 2015, 490(1/2): 298-307.
- [16] Sharvil P, Bhavana C, Atul R, *et al.* Enhanced oral bioavailability and anticancer activity of novel curcumin loaded mixed micelles in human lung cancer cells [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(12): 1103-1111.
- [17] 郑楠楠, 吴琳华, 唐景玲. 聚乙二醇维生素 E 琥珀酸酯在药剂学中的应用 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(16): 1373-1376.
- [18] Guo Y, Luo J, Tan S, *et al.* The application of vitamin E TPGS in drug delivery [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 49(2): 175-186.
- [19] Seo S W, Han H K, Chun M K, *et al.* Preparation and pharmacokinetic evaluation of curcumin solid dispersion using Solutol[®] HS15 as a carrier [J]. *Int J Pharm*, 2012, 424(1/2): 18-25.
- [20] Alani A W G, Rao D A, Seidel R, *et al.* The effect of novel surfactants and Solutol[®] HS 15 on paclitaxel aqueous solubility and permeability across a Caco-2 monolayer [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99(8): 3473-3485.
- [21] 闵红燕, 沈成英, 申宝德, 等. 效应面法优化甘草酸胆盐/磷脂混合胶束舌下速溶膜 [J]. 中草药, 2014, 45(24): 3543-3548.
- [22] Jin X, Zhang Z H, Sun E, *et al.* A novel drug-phospholipid complex loaded micelle for baohuoside I enhanced oral absorption: *In vivo* and *in vivo* evaluations [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2013, 39(9): 1421-1430.
- [23] Yan H, Song J, Zhang Z, *et al.* Optimization and anticancer activity *in vitro* and *in vivo* of baohuoside I incorporated into mixed micelles based on lecithin and Solutol HS 15 [J]. *Drug Deliv*, 2015, 23(8): 2911-2918.
- [24] Torchilin V P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems [J]. *Control Release*, 2001, 73(2/3): 137-172.
- [25] 朱亚楠, 王 满, 王璐璐. 含聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯的秋水仙碱醇质体的制备及其体外透皮效果研究 [J]. 中草药, 2015, 46(24): 3655-3660.
- [26] Jaleh V, Erfaneh G. Enhancement of dissolution rate of Fenofibrate by spray drying technique: comparison of Eudragite-100, Solutol-HS 15 and hydroxypropyl cellulose as carriers [J]. *Farmacia*, 2015, 63(3): 433-445.
- [27] 关 辉, 欧阳梅, 梁娇旸, 等. 姜黄素固体分散体的制备和溶出度考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(12): 945-955.
- [28] 崔 晶, 翟光喜, 赵 宇, 等. 姜黄素微乳的体内吸收研究 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 368-372.