

表面活性剂对姜黄素类成分水溶性与抗肝纤维化作用的影响

刘芳^{1,2}, 张倩^{1,2}, 李锐^{1,2*}, 肖洪涛^{3*}, 邱婷婷⁴, 欧阳雪倩⁴, 殷恒福⁴

1. 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039

2. 西华大学淮安应用技术研究中心, 江苏 淮安 223001

3. 电子科技大学附属医院, 四川省人民医院 药学部, 四川 成都 610072

4. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611130

摘要:目的 研究以3种食品级表面活性剂为增溶剂增加姜黄素类成分的水溶性,并研究表面活性剂对姜黄素类成分结构、稳定性及体内抗肝纤维化作用的影响。方法 采用高速分散法制备姜黄素类成分与表面活性剂的配比溶液,通过LC-MS/MS对配比溶液中姜黄素类成分进行定性分析,建立HPLC-DAD指纹图谱,进行定量分析;进一步通过肝纤维化大鼠模型评估不同质量浓度姜黄素配比溶液的抗肝纤维化作用。结果 羟乙基纤维素、明胶、蔗糖酯加入的质量比为3:5:40,高速分散机转速为6 000 r/min时,姜黄素类成分的水溶性最大为1.387 mg/mL;LC-MS/MS分析表明,姜黄素类成分结构未改变;指纹图谱表明,有18批次样品相似度大于99%;且不同批次样品中姜黄素、脱甲氧基姜黄素、双脱甲氧基姜黄素含量稳定,RSD分别为1.60%、2.24%、3.74%;抗肝纤维化动物实验表明,游离药物混悬液组大鼠天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)水平分别为(64.1±20.3)、(45.1±13.9) U/L,而姜黄素配比溶液组为(19.4±8.7)、(11.8±4.9) U/L。结论 姜黄素类成分经表面活性剂配比增溶后水溶性较游离状态(2.677 μg/mL)提高了517倍,重复试验表明姜黄素类成分的化学结构与含量均稳定;增溶后的姜黄素类成分显示出更好的抗肝纤维化效果。

关键词: 姜黄素类成分;表面活性剂;水溶性;定性;定量;抗肝纤维化

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)08-1809-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.011

Effects of surfactants on water solubility and anti-hepatic fibrosis of curcuminoids

LIU Fang^{1,2}, ZHANG Qian^{1,2}, LI Rui^{1,2}, XIAO Hong-tao³, KUANG Ting-ting⁴, OUYANG Xue-qian⁴, YIN Heng-fu⁴

1. School of Food and Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China

2. Huaian Applied Technology Research Center, Xihua University, Huaian 223001, China

3. Department of Pharmacy, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610072, China

4. National Institute of Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China

Abstract: Objective To increase the water solubility of curcumin constituents by three kinds of food grade surfactants, and to study the effect of surfactants on the quality standard and stability and anti-hepatic fibrosis *in vivo* of curcumin solution. **Methods** The high-speed dispersion method was used to prepare the solution of curcuminoids-surfactants. The qualitative analysis of curcuminoids was confirmed by LC-MS/MS. HPLC-DAD fingerprinting was established and quantitative analysis was conducted. And the effects on anti-liver fibrosis of different concentrations curcumin ratio solution were evaluated by rat model. **Results** The maximum water solubility of curcumin constituents was 1.387 mg/mL. LC-MS/MS analysis showed that the structure of curcuminoids were stable; The results of fingerprinting analysis demonstrated that the similarity of 18 batches of samples were higher than 99%. The contents of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in different batches of samples were stable with the RSD of 1.60%, 2.24%, and 3.74%. The rat model of hepatic fibrosis showed that the contents of AST and ALT in free curcumin suspension group were (64.1 ±

收稿日期: 2017-11-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81302742); 淮安市重点研发项目(HAN201622); 四川省教育厅重点项目(11ZA005)

作者简介: 刘芳(1992—),女,硕士研究生,从事中药及天然药物的分析与研究工作。Tel: 18380460285 E-mail: 1849124204@qq.com

*通信作者 李锐,男,博士,副教授,从事中药的化学分析、质量控制及体内代谢研究。E-mail: lirui-elite@163.com

肖洪涛,男,博士,教授,主要从事天然产物分析及其体内代谢研究。E-mail: xht927@163.com

20.3) and (45.1 ± 13.9) U/L, respectively, while that solution of curcuminoids-surfactants group was (19.4 ± 8.7) and (11.8 ± 4.9) U/L.

Conclusion The solubility of curcuminoids was increased 517 times compared with the free state ($2.677 \mu\text{g/mL}$) after solubilization with surfactants, and repeated tests indicated that the structure and contents of curcuminoids were stable; the solubilized curcuminoids exhibited better anti-liver fibrosis effects than the free.

Key words: curcuminoids; surfactants; water solubility; qualitative; quantitative; anti-hepatic fibrosis

以姜黄素 (curcumin, CUR)、脱甲氧基姜黄素 (demethoxycurcumin, DMC)、双脱甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin, BDMC) 为代表的姜黄素类成分是从姜科属植物姜黄根茎中提取出来的酚类物质^[1], 具有抗氧化^[2-3]、抗炎^[4-5]、抗肿瘤^[6-9]、保护肝肾等作用。但其存在水溶性差、口服生物利用度低的问题^[10-11]。游离姜黄素水溶性为 $2.677 \mu\text{g/mL}$ ^[12], 生物利用度仅为 4.13%^[13]。而低水溶性正是导致姜黄素生物利用度低的重要原因, 针对姜黄素类成分水溶性低的缺点, 研究者采用制剂学方法, 以化学合成为主的结构修饰法改善其溶解性^[14-16]。童晓东等^[17]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 (SHS15) 为载体, 制备姜黄素胶束, 姜黄素的溶解度达到 2.03 mg/mL , 胶束组较姜黄素组的生物利用度提高了 303.5%; Parvathy 等^[18]通过姜黄素的酚羟基与糖结合形成姜黄素- β -二葡萄糖苷, 使其水溶性增加, 从而增强其抗氧化性及抗诱变性。

但以上方法都需要采用有机试剂、催化剂、高分子材料等化学物质, 增加了应用的安全风险。Ahmed 等^[19]用天然植物葫芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 提取的可溶性膳食纤维包裹姜黄素类成分, 该新型纤维制剂与游离姜黄素类成分相比, 口服吸收时在动物体内提高了 20 倍, 在人体内提高了 15.8 倍。这种采用天然活性物质提高水溶性和生物利用度的方法保证了临床应用的安全性, 为本实验的研究思路奠定了基础。羟乙基纤维素 (HEC)、明胶、蔗糖酯 (SE-15) 是可在膳食中添加的食品级表面活性剂, HEC 具有良好的分散、乳化、黏合作用, 可使体系的稳定性得到提高; 明胶常作稳定剂、乳化剂、澄清剂; 蔗糖酯具有降低表面张力及促乳化、分散、增溶等特性, 因此能提高难溶性成分的水溶性。本实验综合利用上述辅料的特性, 采用高速分散法制备姜黄素类成分与 3 种表面活性剂的配比溶液, 从定性、定量层面建立配比溶液中姜黄素类成分的质量标准, 考察其稳定性, 进而通过大鼠实验研究配比溶液中姜黄素类成分的抗肝纤维化作用, 为姜黄素类成分的临床应用提供新的思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪, 美国 Agilent Technology 公司; Acquity UPLC H-Class, 美国 Waters 公司; Triple QuadTM 3500 质谱仪, 美国 SCIEX 公司, 配有电喷雾离子源 (ESI); YMC-Pack-ODS-A C_{18} 反相色谱柱 ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 及 Agilent Zorbax SB- C_{18} 保护柱 ($12.5 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); Analytical DB C_{18} 色谱柱 ($50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $1.9 \mu\text{m}$); UPT-II-5/10/20T 超纯水机, 西安优普仪器设备有限公司; KQ-250 DB 数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 电子分析天平, 德国 Satorius 公司; 5424 离心机, Eppendorf 公司; SpectraMax i3x 酶标仪, 美谷分子仪器 (上海) 有限公司; T18 高速分散机, IKA (广州) 仪器设备有限公司。

1.2 药品与试剂

BDMC、DMC、姜黄素对照品, 成都普思生物科技有限公司; 乙腈、甲酸 (色谱纯), 美国 Sigma 公司; 丙酮为国产分析纯; 去离子水由纯净水经 Millipore Simplicity 纯水系统制备; 食品级表面活性剂: HEC、明胶、SE-15, 深圳恒生生物科技有限公司; 天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT) 检测试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只, 体质量 (200 ± 20) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 合格证号 SCXK (川) 2015-030, 适应环境 1 周开始实验。

2 方法与结果

2.1 表面活性剂溶解姜黄素类成分的配比优化

称取不同比例的表面活性剂 (HEC、明胶、SE-15) 置于 250 mL 烧杯中, 加入 80 mL 去离子水, 搅拌至全部溶解, 再加入适量姜黄素类成分, 用高速分散机搅拌至完全溶解。采用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 研究不同配比的 HEC (A)、明胶 (B)、SE-15 (C) 及不同转速 (D) 的高速分散机对姜黄素类成分水溶性的影响, 因素水平选取见表 1, 正交试验结果见表 1, 方差分析见表 2。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果Table 1 $L_9(3^4)$ orthogonal experimental design and results

试验号	A/g	B/g	C/g	D/(r·min ⁻¹)	水溶性/ (mg·mL ⁻¹)
1	2.0 (1)	2.0 (1)	80 (1)	2 000 (1)	0.993
2	2.0 (1)	6.0 (2)	100 (2)	4 000 (2)	0.996
3	2.0 (1)	10.0 (3)	120 (3)	6 000 (3)	1.062
4	4.0 (2)	2.0 (1)	100 (2)	6 000 (3)	1.102
5	4.0 (2)	6.0 (2)	120 (3)	2 000 (1)	1.045
6	4.0 (2)	10.0 (3)	80 (1)	4 000 (2)	1.208
7	6.0 (3)	2.0 (1)	120 (3)	4 000 (2)	1.325
8	6.0 (3)	6.0 (2)	80 (1)	6 000 (3)	1.384
9	6.0 (3)	10.0 (3)	100 (2)	2 000 (1)	1.253
K_1	3.051	3.420	3.585	3.291	
K_2	3.355	3.425	3.351	3.529	
K_3	3.962	3.523	3.432	3.548	
R	0.911	0.103	0.234	0.257	

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance on orthogonal design

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	0.143 420 67	2	63.780 3	$P<0.05$
B (误差)	0.002 248 67	2		
C	0.009 414 00	2	4.186 5	
D	0.013 672 67	2	6.080 3	

$$F_{0.05}(2, 2)=19.0 \quad F_{0.01}(2, 2)=99.0$$

由表 1 正交试验的极差值可以推断出, 各因素对实验指标影响的顺序是 $A>D>C>B$, 即 HEC 用量、高速分散机转速、SE-15 用量、明胶用量的多少对姜黄素类成分水溶性的影响依次减弱。结合表 2 方差分析结果可以看出, 因素 A 的影响显著 ($P<0.05$), 因素 B、C、D 影响不显著。通过比较各水平对应的数据之和的大小, 确定最优水平, 因此最优工艺条件为 $A_3B_3C_1D_3$, 即 HEC、明胶、SE-15 加入的质量比为 3:5:40, 高速分散机转速为 6 000 r/min, 此组合不包括在 9 次试验中, 按照确定的组合进行验证实验。

2.2 配比优化的验证考察

按照正交试验优化的比例制备 3 批次姜黄素类成分与表面活性剂的配比溶液, 测定水溶性。结果 3 批样品的水溶性分别为 1.376、1.387、1.385 mg/mL, 均值为 (1.383 ± 0.006) mg/mL, 结果表明该优化工艺稳定可行。

目前, 提高难溶性成分水溶性的手段一般是加入大量化学性增溶剂, 如反胶束体系、固体分散体技术、脂质体、微乳, 这些方法会使用大量的有机试剂, 增加了安全风险。而通过表面活性剂提高难溶性成分的水溶性, 方法简便且使用安全。

2.3 质量标准定性研究

2.3.1 配比溶液中 3 种姜黄素类成分的 LC-MS/MS 结构分析 质谱参数设定: 负离子模式扫描, 扫描范围 m/z 303~371; 气帘气 241.325 kPa (35 psi), 离子化电压-4 500 V, 喷雾气 110.320 kPa (16 psi), 辅助加热气 124.110 kPa (18 psi), 碰撞气 41.370 kPa (6 psi), 去簇电压-60 V。HPLC-MS/MS 法对配比溶液中 3 个活性成分 (姜黄素、DMC、BDMC) 进行检测, 对其进行结构鉴定, 通过与其对应的色谱保留时间和质谱裂解规律对比得到了确认。姜黄素的特征性裂解方式: m/z 367→217→173 $[M-H]^-$; DMC 的特征性裂解方式: m/z 337→217→173 和 m/z 337→187→143 $[M-H]^-$; BDMC 的特征性裂解方式: m/z 307→187→143 $[M-H]^-$ [20]。各物质的 MS/MS 质谱图及特征裂解途径如图 1 所示。

2.3.2 20 批次重复制备样品的指纹图谱研究 为了对不同批次配比溶液中主要成分的质量进行研究, 针对 20 批次重复制备样品采用“中药 HPLC 指纹图谱相似度评价系统软件”对其进行指纹图谱研究, 建立了 HPLC 指纹图谱, 结果见图 2。20 批样品中主要化学成分在组成上一致, 共检测到 3 个共有峰 (DMC、BDMC、姜黄素)。相似度分析如表 3 所示, 结果表明, 所制得的 20 批样品中有 18 批的相似度大于 99%, 为进一步完善其质量标准奠定了基础。

2.4 定量研究

2.4.1 液相色谱条件 YMC-Pack-ODS-A C_{18} 反相色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 及安捷伦 ZorbaxSB- C_{18} 保护柱 (12.5 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液 (45:55); 柱温 33 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 425 nm 波长下检测姜黄素、BDMC、DMC 的含量, 进样体积 10 μ L。

2.4.2 样品的处理 将样品超声 20 min, 精密量取 1 mL, 加入 8 mL 丙酮, 取上清液, 0.45 μ m 滤膜滤过备用。

2.4.3 对照品溶液的制备 分别精密称取姜黄素、DMC、BDMC 对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 丙酮溶解并定容, 得到 3 个单体化合物的对照品值

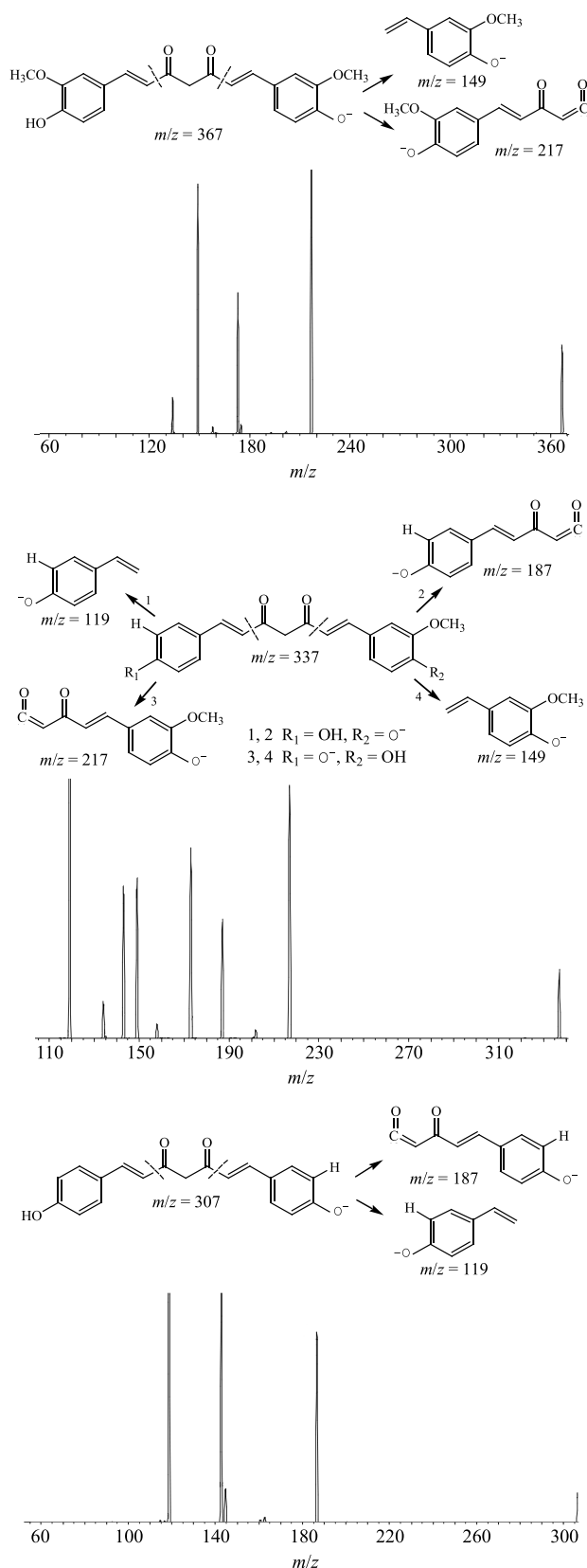


图 1 姜黄素、DMC、BDMC 的 MS/MS 质谱图及质谱裂解途径

Fig. 1 MS/MS spectra and mass spectral fragmentation pathways of CUR, DMC, and BDMC

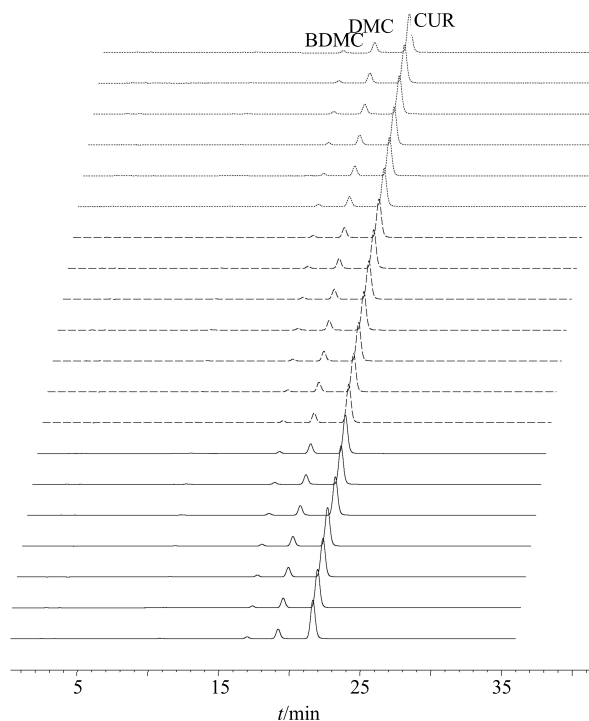


图 2 20 批样品的 HPLC 指纹图谱 (425 nm)

Fig. 2 HPLC fingerprint chromatograms of 20 batches of samples (425 nm)

备液, 4 °C 保存备用。采用外标法, 将储备液依次稀释至不同浓度, 用于标准曲线的建立。

2.4.4 系统适用性实验 将混合对照品溶液连续进样 5 次来评价系统适用性, 对于所有分析物, 要求拖尾因子小于 1.2, 分离度大于 1.5, 理论塔板数不低于 10 000。

2.4.5 标准曲线的建立及最低检测限的测定 在选定的实验条件下建立标准曲线, 配制姜黄素、DMC、BDMC 混标母液质量浓度分别为 100、50、2 $\mu\text{g/mL}$, 依次对其进行 2 倍梯度稀释至 6 个质量浓度, 测定相应的峰面积, 并建立标准曲线。结果分别为姜黄素 $Y=80.35 X-106.2$, $r=0.999 5$; DMC $Y=95.39 X-68.64$, $r=0.999 5$; BDMC $Y=499.7 X-18.60$, $r=0.999 5$; r 均大于 0.999 0, 表明姜黄素质量浓度在 3.13~100 $\mu\text{g/mL}$ 、DMC 质量浓度在 1.56~50 $\mu\text{g/mL}$ 、BDMC 质量浓度在 0.06~2 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好, 通过分析一系列稀释的标准溶液来确定每种分析物的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ), 直到 LOD 的信噪比 (S/N) 为 3, LOQ 的 S/N 为 10, 结果姜黄素、DMC、BDMC 的 LOD 分别为 10.2、8.3、5.7 ng/mL, LOQ 分别为 31.5、24.6、15.4 ng/mL。

2.4.6 精密度实验 精密度的考察包括样品的日内、

表 3 20 批配比溶液中姜黄素、DMC、BDMC 的测定结果
Table 3 Contents of CUR, DMC, and BDMC in 20 batches ratio solution

序号	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				相似度
	姜黄素	DMC	BDMC	总含量	
1	32.81	6.65	0.21	39.67	0.999
2	32.29	6.51	0.21	40.01	0.997
3	31.91	6.46	0.19	38.56	0.995
4	31.93	6.21	0.21	38.35	0.989
5	32.72	6.92	0.22	39.86	0.999
6	33.05	6.61	0.21	39.87	0.999
7	33.23	6.66	0.21	40.10	0.999
8	32.92	6.60	0.22	39.74	0.999
9	33.15	6.43	0.21	39.79	0.999
10	32.20	6.64	0.21	39.15	0.997
11	32.16	6.43	0.21	38.80	0.996
12	32.81	6.55	0.20	39.56	0.999
13	33.45	6.63	0.20	40.28	1.000
14	32.79	6.42	0.22	39.43	0.997
15	33.07	6.64	0.21	39.92	0.999
16	32.92	6.62	0.21	39.70	0.998
17	31.35	6.73	0.22	38.30	0.987
18	32.81	6.66	0.21	39.68	0.999
19	32.65	6.65	0.22	39.52	0.996
20	32.86	6.48	0.22	39.56	0.997

日间精密度。日内精密度是在 1 d 内按照“2.4.1”项下分析条件，对同一样品溶液连续测定 5 次，计算出姜黄素、DMC、BDMC 质量浓度的 RSD 分别为 0.68%、0.57%、0.82%；日间精密度是连续 3 d 内对同一样品溶液进行测定，RSD 分别为 1.43%、1.36%、1.69%，本实验方法具有良好的精密度。

2.4.7 重复性实验 取同一样品溶液 5 份，按照“2.3.1”项下色谱条件操作、分析、计算，CUR、DMC、BDMC 质量浓度的 RSD 分别为 2.1%、1.8%、2.4%，说明建立的方法重现性良好。

2.4.8 加样回收率实验 加样回收率实验是用来进一步评价方法的准确度，向含量已知的样品溶液中加入适量已知量的混合对照品储备液，按照“2.4.1”项下色谱条件进 HPLC 分析，测定的理论值和真实加入量的比值即为回收率。姜黄素、DMC、BDMC 的平均回收率分别为 97.7%、99.1%、98.4%，RSD 值分别为 1.8%、2.2%、2.8%。

2.4.9 不同批次样品溶液中姜黄素类成分的含量测定 采用 HPLC-DAD 方法对 20 批样品溶液进行分析，姜黄素、DMC、BDMC 对照品及 3 号样品色谱图如图 3 所示，20 批配比溶液中 3 个活性成分的含量如表 3 所示。姜黄素的质量浓度在 31.35~33.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，DMC 的质量浓度在 6.21~6.92 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，BDMC 的质量浓度在 0.19~0.22 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，RSD 值分别为 1.60%、2.24%、3.74%。

2.4.10 样品的稳定性 取所制得的同一样品，在室温下于 1、10、30、60、120、200 d 分别用丙酮提取，滤过后经 HPLC 测定含量，绘制稳定性曲线(图 4)。200 d 内的稳定性考察显示姜黄素降解了 1.46%、DMC 降解了 1.98%、BDMC 降解了 2.87%，表明配比溶液在常温下储存稳定性良好，性质基本稳定。

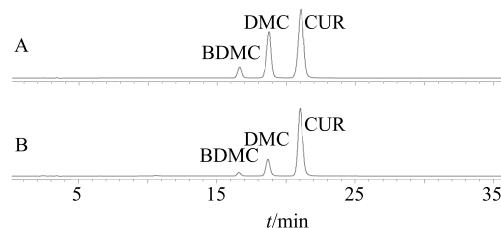


图 3 3 种姜黄素对照品 (A) 和样品 3 (B) 的 HPLC 图谱
Fig. 3 HPLC of three curcuminoids standards (A) and sample 3 (B)

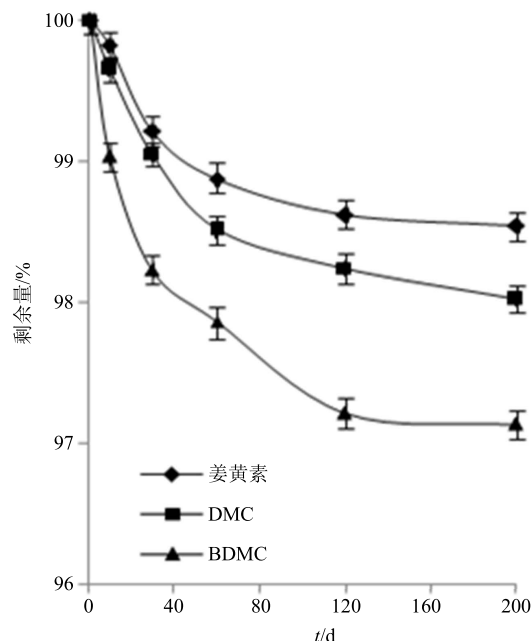


图 4 配比溶液中姜黄素、DMC、BDMC 在 200 d 内的剩余量
Fig. 4 Remains of CUR, DMC, and BDMC in ratio solution at 200 d

2.5 抗肝纤维化活性研究

2.5.1 动物分组及给药 将 70 只大鼠随机分为 7 组, 每组 10 只, 即对照组 (无药物的表面活性剂溶液组)、肝纤维化模型组、姜黄素游离药物混悬液组 (2.5 mg/mL, 蒸馏水溶解)、姜黄素配比溶液组 (1.25、2.5、5 mg/mL)、联苯双酯阳性对照组。禁食不禁水 12 h 后, 正常组 ig (10 mL/kg) 给予去离子水溶解的 3 种表面活性剂 (HEC-明胶-SE-15 3 : 5 : 40); 肝纤维化模型组按 10 mL/kg ig 酒精混合物 (酒精-吡啶-植物油 10 : 25 : 2), 同时每周按 0.3 mL/kg sc CCl₄ 植物油 (CCl₄-植物油 1 : 3); 姜黄素游离药物混悬液组、姜黄素配比溶液组在 sc CCl₄ 植物油和 ig 酒精混合物的基础上 ig 相应药物 (给药剂量游离药物组 50 mg/kg, 姜黄素配比溶液组分别为 25、50、100 mg/kg); 联苯双酯组 ig 联苯双酯 (10 mL/kg), 每天 1 次, 连续 6 周。

2.5.2 样本采集 第 6 周末处死所有大鼠, 10% 水合氯醛 (0.2 mL/100 g) 麻醉后剖腹经下腔动脉采血, 血浆于 4 000 r/min 离心 15 min; 切取大鼠部分肝组织立即用 4% 多聚甲醛固定 (固定液是标本体积的 5 倍以上, 固定时间至少 24 h), 另一部分肝组织储存于 -80 °C。

2.5.3 生化指标检测 各组大鼠血清中 ALT、AST 值按照试剂盒说明书进行测定, 结果见表 4。与对照组相比, 模型组大鼠血清的 ALT、AST 水平明显升高。与模型组比较, 给予了姜黄素的各组大鼠血清中 ALT、AST 均不同程度地降低, 且由表面活性剂增溶后的姜黄素配比溶液组比游离姜黄素组效果

好, 高剂量组效果与联苯双酯组相当。

2.5.4 各组大鼠一般情况的对比 对照组大鼠毛发光泽、体态活泼、体质量增加, 食量及大小便都正常; 模型组及其他组大鼠 sc CCl₄ 及酒精混合物后出现精神萎靡、嗜睡现象, 皮毛疏松无光泽、饮食逐渐减少、体质量下降、大便不成形, 且每组大鼠在实验期间均有 2~3 只死亡。

2.5.5 各组大鼠肝脏外观比较 对照组大鼠肝脏呈红褐色、质地软; 模型组大鼠肝脏颜色较正常组暗淡、质硬、表面粗糙; 姜黄素游离药物混悬液组大鼠肝脏色泽暗红、表面不光滑; 姜黄素配比溶液低、中剂量组大鼠肝脏与游离药物组相似; 高剂量组及联苯双酯组大鼠肝脏颜色暗红、质地中等硬。

3 讨论

虽然姜黄素类成分具有较为理想的药理活性, 且几乎无毒性, 在临床上有广阔的应用前景^[21]。但其水溶性低, 极大限制了临床应用。本实验以 HEC、明胶、SE-15 3 种食品级表面活性剂溶解姜黄素类成分制备配比溶液, 通过 LC-MS/MS 结构定性分析、HPLC 指纹图谱分析、定量分析及稳定性考察, 建立了较全面的质量控制标准, 结果显示配比溶液中姜黄素类成分的水溶性提高且结构未改变、多批次样品的含量稳定, 200 d 内的稳定性考察表明配比溶液在常温下储存稳定性良好, 肝纤维化大鼠模型评估显示姜黄素配比溶液高剂量组有较好的抗肝纤维化作用。目前, 解决姜黄素类成分水溶性低的问题多采用结构修饰 (接入葡萄糖苷键或加羟基)^[22], 或制成制剂 (固体脂质纳米粒、微乳等)^[23-24] 的方法。但是, 对该物质进行结构修饰会不可避免使用大量化学有机试剂和催化剂, 增加了使用的安全风险, 而结构修饰本身也存在反应过程复杂、产物收率低等一系列工艺难题。此外, 制备该类难溶成分的纳米粒载体则存在包埋率低、载药量少、稳定性差的问题。本实验采用食品级表面活性剂的配比溶液提高了姜黄素类成分的水溶性, 成功地解决了难溶性成分水溶性低的问题, 并更好地发挥抗肝纤维化作用, 使得此类难溶性成分的应用前景更加广阔。

参考文献

- [1] 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, 3(11): 1483-1490.
- [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):

表 4 大鼠血清 ALT、AST 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Results of serum ALT and AST index in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照	8	—	6.7 ± 2.1	8.5 ± 3.6
模型	7	—	60.4 ± 24.4 ^{###}	82.1 ± 32.2 ^{###}
姜黄素游离药物 混悬液	7	50	45.1 ± 13.9 [*]	64.1 ± 20.3 [*]
姜黄素配比溶液	7	25	40.8 ± 9.8 [*]	51.9 ± 15.7 [*]
	8	50	24.9 ± 7.3 ^{**}	32.6 ± 10.4 ^{**}
	8	100	11.8 ± 4.9 ^{**}	19.4 ± 8.7 ^{**}
联苯双酯	8	20	0.2 ± 3.5 ^{**}	18.7 ± 6.1 ^{**}

与对照组比较: ^{###}P < 0.01; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01

^{###}P < 0.01 vs normal group; ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01 vs model group

- 2373-2380.
- [3] 王春战, 景 华. 姜黄素抗炎抗氧化作用的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2012, 25(6): 658-660.
- [4] Kerio L C, Wachira F N, Wanyoko J K, *et al.* Total polyphenols, catechin profiles and antioxidant activity of tea products from purple leaf coloured tea cultivars [J]. *Food Chem*, 2013, 136(3/4): 1405-1413.
- [5] Basnet P, Skalko-Basnet N. Curcumin: An anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment [J]. *Molecules*, 2011, 16(6): 4567-4598.
- [6] 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.
- [7] Manikandan R, Beulaja M, Arulvasu C, *et al.* Synergistic anticancer activity of curcumin and catechin: An *in vitro* study using human cancer cell lines [J]. *Microsc Res Techniq*, 2012, 75(2): 112-116.
- [8] 饶 佳, 黄仁魏. 姜黄素抗肿瘤作用及机制的研究进展 [J]. 新医学, 2011, 42(2): 127-130.
- [9] 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.
- [10] Siviero A, Gallo E, Maggini V, *et al.* Curcumin, a golden spice with a low bioavailability [J]. *J Herb Med*, 2015, 5(2): 57-70.
- [11] Li J, Shin G H, Lee I W, *et al.* Soluble starch formulated nanocomposite increases water solubility and stability of curcumin [J]. *Food Hydrocoll*, 2016, 56(5): 41-49.
- [12] Modasiya M K, Patel V M. Studies on solubility of curcumin [J]. *Int J Pharm Life Sci*, 2012, 3(3): 1490-1497.
- [13] 张立康, 汪小珍, 李婉姝, 等. 姜黄素在大鼠体内药代动力学和生物利用度研究 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(10): 1458-1462.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] 童晓东, 范永春, 严 玮. 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 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 902-906.
- [18] Parvathy K S, Negi P S, Srinivas P. Antioxidant, antimutagenic and antibacterial activities of curcumin- β -diglucoside [J]. *Food Chem*, 2009, 115(1): 265-271.
- [19] Ahmed K, Li Y, McClements D J, *et al.* Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties [J]. *Food Chem*, 2012, 132(2): 799-807.
- [20] Li R, Xiang C, Ye M, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of curcuminoids in herbal medicines derived from *Curcuma* species [J]. *Food Chem*, 2011, 126(4): 1890-1895.
- [21] 贾 坤. 姜黄的质量控制研究及姜黄色素与茶多酚联用纳米体系的制备、质量控制和体外活性研究 [D]. 成都: 西华大学, 2016.
- [22] 张永为, 李伟平, 蒋福升, 等. 姜黄素结构修饰与生物活性的研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2012, 41(7): 29-31.
- [23] Liu C H, Chang F Y, Hung D K. Terpene microemulsions for transdermal curcumin delivery: Effects of terpenes and cosurfactants [J]. *Colloid Surfaces B*, 2011, 82(1): 63-70.
- [24] Chen Y, Wu Q, Zhang Z, *et al.* Preparation of curcumin-loaded liposomes and evaluation of their skin permeation and pharmacodynamics [J]. *Molecules*, 2012, 17(5): 5972-5987.