

· 药剂学 ·

## 姜黄素在 PEG-400 中的溶解度及稳定性研究

全永涛<sup>a</sup>, 高勇<sup>a</sup>, 高保安<sup>b</sup>, 岳力群<sup>b</sup>, 陈建明<sup>b</sup> (第二军医大学 a. 研究生管理大队药学队 b. 药学院, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 研究姜黄素在聚乙二醇-400(PEG-400)中的溶解度和稳定性,并筛选合适的稳定剂提高其灭菌稳定性。方法 通过溶解度测定法测定姜黄素在PEG-400中的溶解度,加速试验考察其在不同pH条件下的稳定性,并筛选合适的稳定剂提高其灭菌稳定性,然后通过恒温加速试验计算推测含有稳定剂的姜黄素PEG-400溶液的有效期。结果 姜黄素在PEG-400中的溶解度为42 mg/ml,最稳定pH值为3.70;0.1%的没食子酸丙酯可以提高姜黄素的PEG-400溶液灭菌稳定性,使灭菌前后的姜黄素含量几乎没有变化;室温(25℃)下,含0.1%没食子酸丙酯的姜黄素PEG-400溶液有效期可达296.1 d,而低温(6℃)时,有效期可以达到5.5年。结论 本研究表明PEG-400可显著提高姜黄素的溶解度,通过加入0.1%的没食子酸丙酯可显著提高姜黄素PEG-400溶液的稳定性,并且该溶液可经高压灭菌。

**[关键词]** 姜黄素;聚乙二醇-400;溶解度;高压灭菌;稳定性

**[中图分类号]** R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)01-053-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.01.016

## Study on the solubility and stability of curcumin in PEG-400

TONG Yong-tao<sup>a</sup>, GAO Yong<sup>a</sup>, GAO Bao-an<sup>b</sup>, YUE Li-qun<sup>b</sup>, CHEN Jian-ming<sup>b</sup> (Second Military Medical University a. Department of Graduate Management, Shanghai 200433, China; b. School of Pharmacy, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the solubility and stability of curcumin in PEG-400 and screen the best suitable stabilizer to improve the autoclave stability. **Methods** Solubility determination was used to determine the solubility of curcumin in PEG-400. The stability under different pH conditions was studied by accelerated testing. The best suitable stabilizer was screened to improve the autoclave stability and the validity of the curcumin solution in PEG-400 with stabilizer was speculated by accelerated testing. **Results** The solubility of curcumin in PEG-400 was 42 mg/mL; the most stable pH was 3.70. The 0.1% propyl gallate could improve the sterilization stability of curcumin in PEG-400. At room temperature (25℃), the validity duration of curcumin PEG-400 solution with 0.1% propyl gallate was 296.1 days and if at low temperature (6℃), it could be up to 5.5 years. **Conclusion** The study showed that the solubility of curcumin was greatly improved and 0.1% propyl gallate could greatly improve the sterilization stability of curcumin in PEG-400.

**[Key words]** curcumin; PEG-400; solubility; autoclaving; stability

姜黄素(curcumin),又名二阿魏酰基甲烷,是从姜科姜黄属植物姜黄、郁金、莪术的干燥根茎中提取的一种天然有效成分,具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗微生物、清除自由基等多方面药理作用。姜黄素可溶于甲醇、乙醇、碱、醋酸、丙酮和氯仿等有机溶剂,几乎不溶于水( $< 5 \times 10^{-5}$  mol/L),口服给药难以被组织摄取,生物利用度低;而且姜黄素溶液的稳定性差,特别是姜黄素溶液高压灭菌后,其含量会有明显的降低,以上不足限制了姜黄素的临床应用<sup>[1~5]</sup>。PEG-400是一种常用的注射溶媒,其免疫原性、抗原性和毒性小,常用于难溶性药物注射剂的配制,如依托泊苷注射液、尼莫地平注射液、塞替派注射液等。

本课题研究了姜黄素在PEG-400中的溶解度、pH稳定性,通过加入0.1%的没食子酸丙酯提高了姜黄素PEG-400溶液的稳定性,并且该溶液可经高压灭菌,也考察了含有稳定剂的溶液有效期,为姜黄素静脉注射制剂的开发与应用提供了实验基础和理论指导。

### 1 仪器和试剂

**1.1 仪器** Agilent 1100 series 高效液相色谱仪(Agilent Technologies America); DHG-9246A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司); Sartorius AG PB-10 pH测定仪(Sartorius AG); SYQ-DSX-280B手提式不锈钢压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); 0.45 μm 尼龙德国原产进口膜(郑州佰斯特化验仪器销售有限公司); 紫外分光光度计 UV-1102(上海天美科学仪器有限公司)。

**[作者简介]** 全永涛(1990-),男,本科。Tel: 15821710008, E-mail: tongxiyetao@163.com.

**[通讯作者]** 陈建明。Tel: (021) 81871291, E-mail: yjcjm@163.com.

**1.2 试剂** 姜黄素(含量>95%, 郑州荔诺生物科技有限公司); PEG-400(南京威尔化工有限公司)符合中华人民共和国药典2010年版二部; 吐温-80(上海申宇医药化工有限公司); 甲醇(AR, 含量≥99.5%, 国药集团化学试剂有限公司); 冰醋酸(AR, 含量≥99.5%, 中国医药(集团)上海化学试剂公司); 乙腈(GC, 纯度≥99.9%, Merck KGaA Darmstadt Germany); 一水合柠檬酸钠(GR, 含量≥99.8%, 国药集团化学试剂有限公司); 叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、没食子酸丙酯(纯度均≥98.0%, 上海宝曼生物有限公司); 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、L-半胱氨酸(纯度均≥99.0%); 水为去离子水。

## 2 方法与结果

**2.1 溶解度测定** 依据中国药典2010年版(二部)凡例,于室温下(25℃),精密称取姜黄素供试品于1 ml PEG-400中,超声加速溶解,每隔5 min 强力振摇30 s,灯检下观察溶液是否澄明,逐渐增加姜黄素在PEG-400中的量,直至溶液有轻微浑浊为止。实验结果:姜黄素在PEG-400中的溶解度为42 mg/ml(0.114 mol/L)。

### 2.2 HPLC 测定含量的方法

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱:迪马公司(钻石)C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm 5 μm); 流动相:乙腈-2%冰醋酸水(65:35); 检测波长426 nm; 流速:1 ml/min, 柱温:30℃, 进样量:20 μl。

**2.2.2 线性关系考察** 室温下,精密配制浓度为37.5 mg/ml的姜黄素PEG-400溶液,0.45 μm滤膜过滤,移取10 μl续滤液于10 ml容量瓶中,甲醇定容,取样,于200~500 nm波长范围内进行紫外光谱扫描,结果表明:姜黄素在426 nm波长处有最大吸收。

分别精密移取适量续滤液于10 ml容量瓶中以甲醇定容,配制成浓度为9.375、18.75、37.5、75、93.75、107.5 μg/ml的标准溶液,以“2.1”项下色谱条件重复进样,测定峰面积A,以峰面积A和浓度C进行线性回归处理,得标准曲线方程为: $Y = 131.01X - 78.576$  ( $r = 0.9993$ ,  $n = 6$ )。结果表明:姜黄素浓度在9.375~107.5 μg/ml的范围内与吸收度有良好的线性关系。

**2.2.3 方法精密度** 日内精密度:取浓度为18.750、37.500、75.000 μg/ml的标准溶液,以“2.1”项下色谱条件进样,各重复进样5次,根据标准曲线计算其浓度,并计算日内RSD。结果表明:日内精密度的RSD分别为0.93%、0.53%、0.29%; 日间精密度:取浓度为18.750、37.500、75.000 μg/ml的标准溶液以“2.1”

项下色谱条件进样,于3 d内每日测定,根据标准曲线计算其浓度,并计算日间RSD。结果表明:日间精密度的RSD分别为1.673%、1.32%、0.97%; 结果表明:该方法精密度良好。

**2.2.4 方法回收率** 取浓度为37.500 mg/ml的姜黄素PEG-400溶液,用甲醇稀释配制成浓度为18.750、37.500、75.000 μg/ml的供试液,以“2.1”项下色谱条件重复进样测定峰面积,代入标准曲线方程中求得浓度,以测定浓度和理论浓度比较计算方法回收率。结果:平均回收率为(101.78±0.74)% ,相对标准偏差的RSD为1.11% ,方法回收率符合要求。

**2.3 pH 稳定性考察** 取上述浓度为37.5 mg/ml的姜黄素PEG-400溶液,用一水合柠檬酸钠分别配制成pH值为3.03、3.60、3.70、4.30、4.80、6.30、7.00、8.00的姜黄素PEG-400溶液(pH值测定,照《药用辅料手册》原著第4版<sup>[6]</sup>中PEG-400酸度测定方法),0.45 μm滤膜过滤后分装,同置于60℃恒温条件下,分别于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 d取出,降至室温后,取20 μl于10 ml容量瓶中,甲醇定容后进行含量测定。由于姜黄素降解反应符合一级反应速率方程<sup>[7]</sup>,故按一级反应速率方程 $\ln C = \ln C_0 - kt$ 计算不同pH值下的速率常数k。再以pH值为横坐标,lgk为纵坐标,绘制pH-速率曲线(图1)。从图1中可知,姜黄素PEG-400溶液的最适pH值为3.70。

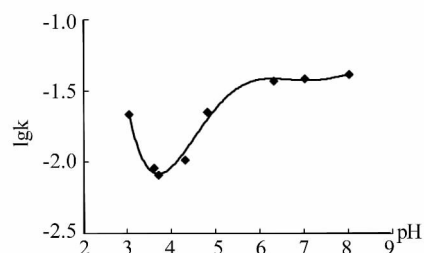


图1 姜黄素PEG-400溶液的pH-速率图

### 2.4 高压灭菌前后稳定性

**2.4.1 高压灭菌及含量测定的方法** 配制浓度为25 mg/ml pH值为3.70的姜黄素PEG-400的溶液,0.45 μm滤膜过滤并分装于透明西林瓶中,充氮气保护,压盖后热压灭菌(121℃、15 min),取出放冷备用。

分别从灭菌前后的样品中取50 μl于25 ml容量瓶中,甲醇定容后以HPLC进行含量测定,以灭菌前姜黄素的峰面积记为100%,计算灭菌后姜黄素的含量变化。

#### 2.4.2 稳定剂筛选

**2.4.2.1 稳定剂范围的筛选** 稳定剂范围: 叔丁基对羟基茴香醚 (BHA)、2,6-二叔丁基对甲酚 (BHT)、叔丁基对苯二酚 (TBHQ)、L-半胱氨酸、没食子酸丙酯。

分别配制 pH 值为 3.70 稳定剂浓度为 0.01%、0.05%、0.10% 的姜黄素 PEG-400 溶液(姜黄素浓度为 25 mg/ml) 照 2.4.1 中方法测定含量并计算百分含量 结果如表 1。

表 1 不同稳定剂对姜黄素 PEG-400 溶液稳定性的作用

稳定剂	稳定剂质量浓度 (%)	灭菌后是灭菌前百分含量 (%)
未加稳定剂		95.03
L-半胱氨酸盐酸盐	0.01	95.29
	0.05	91.24
	0.10	90.50
	0.10	90.50
2,6-二叔丁基对甲酚 (BHT)	0.01	95.25
	0.05	99.19
	0.10	98.98
	0.10	98.98
叔丁基对苯二酚 (TBHQ)	0.01	98.48
	0.05	96.11
	0.10	97.37
叔丁基羟基茴香醚 (BHA)	0.01	94.80
	0.05	94.91
	0.10	97.77
没食子酸丙酯	0.01	94.62
	0.05	97.67
	0.10	99.10

结果表明,未加稳定剂的样品在灭菌过程中会有 5% 左右的损失,不能达到注射剂的要求; BHT、TBHQ、没食子酸丙酯能增加姜黄素 PEG-400 溶液的灭菌稳定性; 但是, BHT、TBHQ 的有效浓度高于两者在注射剂中的常用剂量<sup>[6]</sup>, 不宜选用; 而 0.1% 的没食子酸丙酯不仅稳定效果好, 而且剂量符合注射剂的要求<sup>[6]</sup>, 故选用。

**2.4.2.2 没食子酸丙酯浓度的筛选** 分别配制 pH 值为 3.70, 没食子酸丙酯浓度为 0.08%、0.10%、0.12% 的姜黄素 PEG-400 溶液(姜黄素浓度为 25 mg/mL) 照 2.4.1 中方法测定含量并计算百分含量。结果如表 2 所示。

表 2 不同浓度没食子酸丙酯对姜黄素 PEG-400 溶液稳定性的作用

稳定剂质量浓度 (%)	灭菌后是灭菌前百分含量 (%)
0.08	98.13
0.10	99.25
0.12	99.29

结果表明: 0.10% 的没食子酸丙酯能使姜黄素 PEG-400 溶液在灭菌过程中保持稳定。

综合所得, 姜黄素 PEG-400 溶液的最佳稳定剂为没食子酸丙酯, 浓度为 0.10%。

**2.5 有效期考察** 配制 pH 值为 3.70, 没食子酸丙酯浓度为 0.10% 的姜黄素 PEG-400 溶液(姜黄素浓度为 25 mg/ml) 0.45 μm 滤膜过滤并分装, 分别置于 60、70、80、90 °C 烘箱中, 恒温加速考察, 分别于 0、2、4、6、8、10 d (90 °C 为 0、1、2、3、4、5 d) 取出样品, 放至室温, 移取 20 μl 于 10 ml 容量瓶中, 甲醇定容后进行含量测定。依据一级速率反应方程  $\ln C = \ln C_0 - kt$ , 计算不同温度条件下的反应速率常数 k。结果如表 3 所示:

表 3 姜黄素 PEG-400 溶液恒温加速试验结果

温度 (°C)	速率常数 (k)
60	0.007 1
70	0.014 9
80	0.028 6
90	0.059 1

根据阿伦尼乌斯微分方程  $\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$ , 以  $\ln k$  为纵坐标,  $1/T$  为横坐标, 进行线性回归。根据直线外推法, 计算 25 °C (298.15 K) 时的降解反应速率常数  $k^{25^\circ\text{C}}$ 。线性回归见图 2。

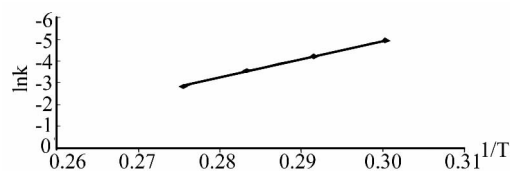


图 2 姜黄素 PEG-400 的溶液降解速率曲线

结果: 回归方程为  $\ln k = -8469.9 \times \frac{1}{T} + 20.480$  ( $R^2 = 0.9991$ ) 外推得室温 (25 °C) 时的降解反应速率常数  $k^{25^\circ\text{C}}$  为 0.0003605, 有效期  $t_{0.9}$  为 296.1 d; 而外推得到 6 °C 的降解反应速率常数为 0.00005213, 此条件下有效期为 2021.9 d。

### 3 讨论

姜黄素在水中几乎不溶 ( $< 5 \times 10^{-5}$  mol/L), 为提高姜黄素的水溶性, 韩刚等<sup>[8]</sup> 制备了姜黄素 β-环糊精包合物, 结果表明 β-环糊精包合物可提高姜黄素水中的溶解度近 10 倍; 寇雪莹等<sup>[9]</sup> 应用混合表面活性剂对姜黄素的进行增溶, 使姜黄素溶解度达到了  $1.89 \times 10^{-3}$  mol/L; 孙洲亮等<sup>[10]</sup> 制备了水溶性 PEG-6000 修饰的姜黄素衍生物, 其在水中的溶解度也只有

8.198 × 10<sup>-3</sup> mol/L ,以上研究对姜黄素溶解度有一定的提高 ,本研究直接将姜黄素溶于 PEG-400 中 ,溶解度达到了 0.114 mol/L ,明显高于以上研究结果 ,从而为姜黄素注射剂的研究开发创造了有利条件。

本研究也对姜黄素溶液在不同酸碱度条件下的稳定性及有效期进行了考察 ,实验测得本溶液在 pH 值为 3.70 时稳定性最高 ,姜黄素 PEG-400 溶液在碱性和过酸性条件下均不稳定。实验结果表明 ,含有 0.10% 没食子酸丙酯的姜黄素 PEG-400 溶液在室温 (25 ℃) 条件下的有效期为 296.1 d ,相比于谭俊等<sup>[11]</sup> 制备的姜黄素注射液 ,在室温下有效期仅为 73 d ;霍文等<sup>[12]</sup> 制备的姜黄素溶液 ,半衰期仅为 18 d ,含有 0.10% 的没食子酸丙酯的姜黄素 PEG-400 溶液的稳定性有明显提高。

同时 ,针对姜黄素的 PEG-400 溶液在灭菌时有很大程度降解的问题 ,本研究筛选出的 0.1% 没食子酸丙酯作为稳定剂对姜黄素的 PEG-400 溶液灭菌稳定性有很好的作用 ,使灭菌前后的姜黄素含量几乎没有变化 ,对姜黄素注射剂的开发具有很大意义。

可见 ,将姜黄素溶于 PEG-400 中制备成注射剂 ,解决了姜黄素溶解度低、稳定性差的问题 ,并且筛选到了合适的稳定剂使姜黄素 PEG-400 溶液灭菌过程中降解的问题得到了解决 ,为姜黄素注射剂的临床应用提供了参考。

(上接第 50 页)

大于入球小动脉 ,可减少肾小球灌注 ,降低肾小球内压力 ,减少蛋白从肾小球中滤过 ,因此 ,可降低 DN 患者 UARE。这一原理已为临床医师所熟悉。然而 ,临床中常用的阿魏酸哌嗪片 ,一直有“保肾康”的美名 ,也在临床中广泛应用。但其对 DN 患者 UAER 有无影响尚缺乏研究。本研究提示 ,贝那普利联合阿魏酸哌嗪可通过进一步降低 UAER 而起到治疗 DN 的作用 ,为本研究创新之处。康辉等<sup>[4]</sup> 也曾使用阿魏酸哌嗪治疗 DN ,认为其能改善早期 DN 患者临床症状 ,又能改善肾功能 ,对早期 DN 有较好的治疗作用。但其评价疗效的指标非公认的 UAER ,且未提及是否同时使用 ACEI 类药物 ,尚缺乏说服力。阿魏酸哌嗪之所以能够降低 UAER ,可能在于其可拮抗内皮素引起的血管收缩<sup>[5]</sup> ,从而降低肾小球内压 ;此外 ,DN 为微血管病变 ,患者体内存在高凝状态 ,阿魏酸哌嗪为中药川芎提取物 ,具有抑制血小板聚集、抗凝血、改善微循环 ,减轻肾组织损伤 ,加速其修复过程等作用<sup>[6]</sup>。

综上所述 ,本研究提示阿魏酸哌嗪联合贝那普利可通过加强降低 UAER 而提高 DN 治疗效果。当然 ,本研究为单中心研究 ,病例数不多 ,随访时间较短 ,其

【参考文献】

[1] 余美荣,蒋福升,丁志山.姜黄素的研究进展[J].中草药,2009,40(5):828.  
 [2] 狄建彬,顾振纶,赵笑东,等.姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展[J].中草药,2010,41(5):附18.  
 [3] 贾绍华,张舜尧.姜黄素的药理作用研究进展[J].中国现代药物应用,2009,3(22):188.  
 [4] 张庆云,莫曾.姜黄素生物利用度研究进展[J].中国药房,2009,20(33):2632.  
 [5] 于冬青,邓华聪.姜黄素的药理作用研究进展[J].山东医药,2005,45(2):72.  
 [6] Rowe RC,Sheskey PJ,Weller PJ.药用辅料(原著第4版)[M].第一版.北京:化学工业出版社,2005:73,523.  
 [7] 万红,赵轶,韩刚.不同条件下姜黄素稳定性的研究[J].中国医学创新,2009,6(16):35.  
 [8] 韩刚,许建华,李魏娜,等.姜黄素β-环糊精包合物的制备工艺研究[J].中药材,2004,27(12):946.  
 [9] 寇雪莹,姚中福.混合表面活性剂对姜黄素的增溶作用[J].山东理工大学学报:自然科学版,2010,24(3):6.  
 [10] 孙洲亮,王昆,林新华.聚乙二醇修饰姜黄素衍生物的制备及表征[J].海峡药学,2008,20(12):7.  
 [11] 谭俊,蔡卓凡,王诗明.姜黄素制剂稳定性实验研究[J].中药材,2002,25(8):586.  
 [12] 韩刚,霍文,李秋影,等.姜黄素的稳定性研究[J].中成药,2007,29(2):291.

[收稿日期]2012-06-01  
 [修回日期]2012-10-30

长期疗效如何尚不清楚。

【参考文献】

[1] Song J,Li YH,Yang XD. Effect of combined therapy with bailing capsule and benazepril on urinary albumin excretion rate and C-reactive protein in patients with early diabetic nephropathy [J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi,2009,29(9):791.  
 [2] World Health Organization. Definition,diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. Report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization,1999:442.  
 [3] Ito H,Komatsu Y,Mifune M,et al. The estimated GFR, but not the stage of diabetic nephropathy graded by the urinary albumin excretion, is associated with the carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study [J]. Cardiovasc Diabetol,2010,15(1):9.  
 [4] 康辉,张秀丽,柴红宇.保肾康治疗早期糖尿病肾病的临床观察[J].中国民康医学,2009,21(3):252.  
 [5] 赵艳平.胰激肽原酶联合保肾康治疗糖尿病肾病疗效观察[J].中外医疗,2011,15(1):148.  
 [6] 何关富.金水宝与保肾康治疗糖尿病肾病的比较研究[J].中国现代药物应用,2010,4(6):130.

[收稿日期]2012-03-08  
 [修回日期]2012-07-07