

# 姜黄素固体分散体对大鼠胃溃疡的疗效研究

梅雪婷, 许东晖\*, 王胜, 许实波

(中山大学 生命科学学院 中药与海洋药物研究室, 广东 广州 510275)

**[摘要]** 目的:研究姜黄素固体分散体(SDs,姜黄素:聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30质量比 1:8)对大鼠胃溃疡的作用。方法:大鼠设为模型组、姜黄素 SDs低、中、高剂量(含姜黄素 10, 30, 90 mg·kg<sup>-1</sup>)组,阳性对照雷尼替丁(27 mg·kg<sup>-1</sup>)组。每组 10 只。乙酸致大鼠胃溃疡模型,连续口服给药 14 d 后,取血测定血清 NO、血浆 ET,测定胃溃疡指数;制备幽门结扎致大鼠胃溃疡模型,给药 3 d 后禁食 36 h 麻醉条件下施幽门结扎术,16 h 后解剖收集胃液,测定胃液量、胃蛋白酶活性、溃疡指数;小鼠口服给药 3 d 后禁食 24 h,第 5 天皮下注射利血平 10 mg·kg<sup>-1</sup>制备胃溃疡模型,6 h 后处死测定胃溃疡指数。结果:乙酸致胃溃疡实验表明,与模型组溃疡指数 5.87 ± 0.48,血清 NO(23.63 ± 5.73) mmol·L<sup>-1</sup>相比,口服姜黄素 SDs 中、高剂量组大鼠溃疡指数显著降低,分别为 4.59 ± 0.96, 3.33 ± 0.93 (P < 0.01),大鼠血清 NO 水平明显升高,分别为 (29.75 ± 5.90) mmol·L<sup>-1</sup> (P < 0.05), (39.63 ± 12.73) mmol·L<sup>-1</sup> (P < 0.01);与模型组血浆 ET(163.65 ± 63.84) ng·L<sup>-1</sup>相比,姜黄素 SDs 高剂量明显降低大鼠的血浆 ET 水平 (104.22 ± 63.84) ng·L<sup>-1</sup> (P < 0.05)。幽门结扎胃溃疡实验表明:与模型组溃疡指数相比,姜黄素 SDs 高剂量能够显著降低大鼠溃疡指数 (P < 0.01);与模型组胃液量、胃酸分泌以及胃蛋白酶活性相比,姜黄素 SDs 中、高剂量能够明显降低大鼠胃液量,分别为 (12.68 ± 1.46) mL (P < 0.05), (9.99 ± 0.79) mL (P < 0.01),能够明显降低大鼠胃酸分泌 (77.62 ± 8.34) mmol·L<sup>-1</sup> (P < 0.05), (65.77 ± 8.19) mmol·L<sup>-1</sup> (P < 0.01),能够明显抑制大鼠胃蛋白酶活性 (358.13 ± 37.44) U·mL<sup>-1</sup> (P < 0.05), (292.13 ± 41.93) U·mL<sup>-1</sup> (P < 0.01)。利血平诱导胃溃疡模型实验表明:与模型组溃疡指数相比,姜黄素 SDs 中、高剂量组能够显著降低利血平诱导胃溃疡的溃疡指数,分别为 3.88 ± 0.40, 3.03 ± 0.64 (P < 0.01)。结论:通过多种实验性胃溃疡模型证明:姜黄素 SDs 具有明显的抗胃溃疡作用,通过抑制胃酸的分泌、降低胃液的酸度、抑制胃蛋白酶活性,促进溃疡面愈合,达到抗胃溃疡效果。

**[关键词]** 姜黄素;聚乙烯吡咯烷酮;固体分散体;胃溃疡

姜黄素 (curcumin, Cur) 具有抗氧化、抗炎、抑菌、抗肿瘤、抗人类免疫缺陷病毒 (HIV) 等多方面药理作用<sup>[1-6]</sup>,但其极难溶于水,同时极低的生物利用度不便于实验研究及临床开发。给大鼠口服 1 g·kg<sup>-1</sup>的姜黄素,约 75% 自粪便排出,而尿中只有痕量的姜黄素,测定血中姜黄素含量和胆汁排泄结果表明肠吸收不好<sup>[7]</sup>;姜黄素在碱性溶液中容易降解<sup>[8]</sup>,在 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中,25 μmol·L<sup>-1</sup>的姜黄素很快降解,其 426 nm 的吸收值 5 min 后约降低 50%,10 min 后只剩 10%,最后溶液是无色的。

由于姜黄素属水难溶性物质,而且口服吸收差、生物利用度低,限制了其广泛药理作用的应

用。本项目前期研究采用固体分散体技术制备姜黄素固体分散体(姜黄素:聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30质量比 1:8),解决姜黄素水溶性差、吸收差的缺点,大大提高姜黄素的水溶性及生物利用度<sup>[9-10]</sup>,本研究将通过多种实验性胃溃疡动物模型开展姜黄素固体分散体对实验性胃溃疡的药理学评价。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,(200 ± 10) g,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2003-0002,粤监证字 2004A021。NIH 纯系小鼠,SPF 级,雌雄各半,体重 (20 ± 1) g,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2003-0002,粤监证字 2004A018。

**1.2 药物** 姜黄素(天津市光复精细化工研究所,纯度 > 95%);聚乙烯吡咯烷酮 k30 (polyvinylpyrrolidone k30),BASF (Ludwigshafen, Germany) 有限公司,用溶剂法按姜黄素与 PVP 质量比 1:8 制备姜黄

[收稿日期] 2009-04-20

[基金项目] 教育部 2004 年度“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-04-0808)

[通信作者] \*许东晖,副教授,博士生导师,从事中药与海洋药物的研究。Tel: (020) 84113651, E-mail: donghuixu007@yahoo.com.cn

素固体分散体;盐酸雷尼替丁,中诺药业有限公司,批号 04075001);利血平注射液(广东邦民制药厂有限公司,批号 040620)。

1.3 试剂 戊巴比妥钠,冰醋酸,分析纯,广东光华化学厂有限公司,批号 040671;一氧化氮(NO)测试盒,南京建成生物工程研究所,批号 050627;内皮素(ET)放射免疫测试盒,北京科美东雅生物技术有限公司,批号 20050701。胃蛋白酶测试盒,南京建成生物工程研究所,批号 050620。

1.4 仪器 752N型紫外可见分光光度计,上海精密仪器有限公司;DK-600B型电热恒温水浴槽,扬州市三发电子有限公司;DMF-96型多管放射免疫计数器,众成机电技术公司。

## 2 方法

2.1 姜黄素固体分散体对乙酸烧灼诱导大鼠胃溃疡模型作用 SD大鼠 60只,禁食不禁水 24 h,其中 50只  $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  戊巴比妥钠麻醉(剩余 10只作正常对照组,雌雄各半),无菌条件下打开腹腔,用一玻璃管垂直放于胃体部浆膜面上,向管内加入乙酸 0.02 mL,1 min后用棉签蘸出乙酸,用无菌生理盐水冲洗 2次,缝合切口。造模后的大鼠随机分成 5组,每组 10只(雌雄各半),即:模型组,姜黄素低、中、高剂量组,雷尼替丁组。模型组每天灌胃给予 PVP-k30 辅料  $720\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;姜黄素 3个剂量组每天分别灌胃给予含姜黄素 10, 30, 90  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的固体分散体(若无特别说明,以下所用剂量都为实际姜黄素含量);雷尼替丁组每天灌胃给予雷尼替丁  $27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;正常对照组每天给予等体积的生理盐水,连续给药 14 d。第 15天禁食不禁水 24 h后,眼眶静脉丛取血 3 mL,其中 2 mL注入含 10% EDTA- $\text{Na}_2$  30  $\mu\text{L}$  和抑肽酶的试管中,混匀,  $4^\circ\text{C}$ ,  $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,分离血浆,  $-20^\circ\text{C}$  保存待测;余下 1 mL注入玻璃管中,室温静置一段时间后分离血清,  $-20^\circ\text{C}$  保存待测。测定血清 NO和血浆 ET水平。脱颈椎处死大鼠,打开腹腔结扎幽门贲门取胃,向胃中注入 4%甲醛溶液 5 mL,固定 30 min后沿胃大弯剪开,将胃外翻,洗去食物残渣。溃疡成圆形或椭圆形,测量溃疡处的最长径和最短径,以他们的均值作为溃疡指数。在各组间进行统计比较,按公式计算溃疡愈合百分率。

溃疡愈合率(%) =

$$\frac{\text{模型组溃疡直径} - \text{实验组溃疡直径}}{\text{模型组溃疡直径}} \times 100\%$$

2.2 姜黄素固体分散体对大鼠幽门结扎胃溃疡模型的作用 SD大鼠 50只,随机分成 5组,每组 10只(雌雄各半),即模型组,姜黄素低、中、高剂量组,雷尼替丁组。各组给药剂量同 2.1项下。实验前 3 d开始给药,实验前大鼠禁食不禁水 36 h,  $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  戊巴比妥钠麻醉下无菌操作,施幽门结扎术,术后禁食禁水,16 h后解剖,收集胃液,离心测量胃液含量;胃经 4%甲醛溶液固定 30 min后在各组间进行统计比较,测定胃液量、胃蛋白酶活性。

2.3 姜黄素固体分散体对利血平诱导小鼠胃溃疡模型的作用 健康 NIH小鼠,随机分成 5组,每组 10只(雌雄各半),分组及各组给药剂量同 2.2项下。实验前 3 d开始给药,第 4天给药后开始禁食 24 h,第 5天给药后 1 h,皮下注射利血平  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;6 h后脱颈椎处死,取胃、4%甲醛固定,计数胃部出现的溃疡点数作为溃疡指数。

2.4 统计方法 实验数据均在 PC机上,采用 SPSS 13.0统计软件进行方差齐性检验,结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异比较采用两个独立样本  $t$  检验分析。

## 3 结果

3.1 对溃疡指数的影响 与模型组相比,姜黄素固体分散体中、高剂量组以及雷尼替丁组溃疡指数均显著降低( $P < 0.01$ ) (表 1)。与模型组相比,姜黄素固体分散体中剂量组血清 NO明显升高( $P < 0.05$ ),高剂量组以及雷尼替丁组血清 NO显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组血浆 ET相比,姜黄素固体分散体高剂量组、雷尼替丁组血浆 ET明显降低( $P < 0.05$ ),低、中剂量组对血浆 ET虽有降低趋势,但无显著性差异。结果表明,姜黄素固体分散体中、高剂量对该模型胃溃疡具有显著的抑制作用(表 2)。

表 1 姜黄素 SDs对乙酸烧灼性胃溃疡模型大鼠溃疡指数的作用( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	溃疡指数	愈合率 / %
模型	-	$5.87 \pm 0.48$	
姜黄素	10	$5.35 \pm 0.77$	8.86
	30	$4.59 \pm 0.96^{1)}$	21.81
	90	$3.33 \pm 0.93^{1)}$	43.27
雷尼替丁	27	$2.40 \pm 0.23^{1)}$	59.07

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$  (表 5同)。

表 2 姜黄素 SDs 对乙酸烧灼性胃溃疡模型大鼠血清 NO 和血浆 ET 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	血清 NO /mmol · L <sup>-1</sup>	血浆 ET /ng · L <sup>-1</sup>
正常	-	54.75 ± 15.54	63.05 ± 23.80
模型	-	23.63 ± 5.73	163.65 ± 63.84
姜黄素	10	26.63 ± 7.17	157.57 ± 57.28
	30	29.75 ± 5.90 <sup>1)</sup>	135.12 ± 36.62
	90	39.63 ± 12.73 <sup>2)</sup>	104.22 ± 63.84 <sup>1)</sup>
雷尼替丁	27	49.13 ± 16.57 <sup>2)</sup>	97.97 ± 27.93 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 3, 4 同)。

3.2 对幽门结扎胃溃疡的保护作用 与模型组相比,姜黄素高剂量组以及雷尼替丁组的溃疡指数均降低 ( $P < 0.01$ ),姜黄素中剂量组对胃溃疡指数也有降低作用 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

表 4 姜黄素 SDs 对各组大鼠胃液含量,胃液酸度以及胃蛋白酶活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	胃液量 /mL	胃液酸度 /mmol · L <sup>-1</sup>	胃蛋白酶活性 /U · mL <sup>-1</sup>
模型	-	14.61 ± 1.80	87.70 ± 9.84	408.63 ± 41.75 <sup>2)</sup>
姜黄素	10	13.70 ± 1.26	82.19 ± 9.48	372.13 ± 38.12
	30	12.68 ± 1.46 <sup>1)</sup>	77.62 ± 8.34 <sup>1)</sup>	358.13 ± 37.44 <sup>1)</sup>
	90	9.99 ± 0.79 <sup>2)</sup>	65.77 ± 8.19 <sup>2)</sup>	292.13 ± 41.93 <sup>2)</sup>
雷尼替丁	27	7.63 ± 1.29 <sup>2)</sup>	55.66 ± 10.46 <sup>2)</sup>	254.88 ± 42.37 <sup>2)</sup>

3.3 对利血平诱导的胃溃疡的保护作用 与模型组相比,姜黄素中、高剂量组以及雷尼替丁组的溃疡指数均降低 ( $P < 0.01$ )。结果表明,姜黄素固体分散体对该模型胃溃疡具有显著的抑制作用 (表 5)。

表 5 姜黄素 SDs 对利血平诱导的大鼠胃溃疡的作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	溃疡指数	愈合率 /%
模型	-	5.13 ± 0.59	-
姜黄素	10	4.68 ± 0.50	8.77
	30	3.88 ± 0.40 <sup>1)</sup>	24.37
	90	3.03 ± 0.64 <sup>1)</sup>	40.94
雷尼替丁	27	2.23 ± 0.52 <sup>1)</sup>	56.53

#### 4 讨论

胃溃疡的发生是局部黏膜损害因素与保护因素之间的平衡失调造成的,在诸多保护因素中黏膜血流量的正常充足是非常重要的,所有造成黏膜局部血运异常的因素都可以诱发溃疡。血管内皮舒张因子 NO 和血管内皮收缩因子 ET 则是调节血管内皮舒缩平衡、局部器官血流的重要因子,ET 是迄今为止已知最强的缩血管物质。已有动物实验表明,胃黏膜下注射外源性 ET 可引起局部微血管长时间收

表 3 姜黄素 SDs 对幽门结扎大鼠胃溃疡的作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	溃疡指数	愈合率 /%
模型	-	4.25 ± 0.71	-
姜黄素	10	4.13 ± 0.64	2.82
	30	3.75 ± 0.46 <sup>1)</sup>	11.76
	90	2.38 ± 0.74 <sup>2)</sup>	44.00
雷尼替丁	27	1.63 ± 0.52 <sup>2)</sup>	61.65

与模型组相比,姜黄素中、高剂量组以及雷尼替丁组对胃液含量、胃酸分泌及胃蛋白酶活性均具有显著的抑制作用 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );并且姜黄素低剂量组对胃蛋白酶活性也有显著的抑制作用 ( $P < 0.05$ ) (表 4)。

缩,而胃黏膜损害时,黏膜内 ET 增加,血流量减少,且微循环改变的时相与胃黏膜内内皮素增加密切相关。NO 保护胃黏膜的作用与其扩张血管、增加血流、抑制血小板聚集、阻止血栓形成而保持血流畅通以及调节黏膜微循环等作用密切相关。

姜黄素固体分散体正是通过提高血清 NO,降低血浆 ET 水平而达到抑制乙酸烧灼引起的胃溃疡。注射利血平可诱发胃溃疡,胃溃疡发生的同时胃酸分泌增加,说明胃酸在利血平胃溃疡的发病中有重要作用。本结果显示:姜黄素有类似于雷尼替丁的作用,通过抑制胃酸分泌,降低胃液的酸度,降低胃蛋白酶活性,从而防止酸和胃蛋白酶对胃黏膜的作用,促进溃疡面愈合,达到抗胃溃疡的效果。

通过姜黄素固体分散体对以上 3 种因素致胃溃疡的研究证明,姜黄素固体分散体对实验性胃溃疡具有较好的保护作用,为临床提供了一种口服有效的新给药途径。

#### [参考文献]

- [1] G K Jayaprakasha, L Jagan Mohan Rao, K K Sakariah. Chemistry and biological activities of Curcuma [J]. Trends Food Science & Technology, 2005, 16: 533.

- [2] K Indira Priyadarsini, Dilip K Maity, GH Naik Role of phenolic o-h and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 35: 475.
- [3] Eva Maria Strasser, Barbara Wessner, Nicole Manhart The relationship between the anti-inflammatory effects of curcumin and cellular glutathione content in myelomonocytic cells[J]. *Biochemi Pharmacol*, 2005, 70: 552
- [4] Young Joon Surh Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: A short review[J]. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40: 1091.
- [5] Ganesh Ramaswami, Hong Chai, Qizhi Yao Curcumin blocks homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries[J]. *J Vasc Surg*, 2004, 40: 1216
- [6] Hong Chai, Shaoyu Yan, Peter Lin Curcumin blocks HIV protease inhibitor ritonavir-induced vascular dysfunction in porcine coronary arteries[J]. *J Am Coll Surg*, 2005, 200: 820.
- [7] Wahlstrom B, Blennow G A study on the fate of curcumin in the rat[J]. *Acta Pharmacol Toxicol*, 1978, 43 (2) : 86
- [8] Ravindranath V, Chandrasekhara N. Absorption and tissue distribution of curcumin in rats[J]. *Toxicology*, 1980, 16 (3) : 259.
- [9] 许东晖,王胜,梅雪婷,等. 聚乙烯吡咯烷酮 K30对姜黄素的增溶研究 [J]. *中药材*, 2008, 33 (3) : 438
- [10] Xu Donghui, Wang Sheng, Jin Jing, et al Dissolution and absorption researches of curcumin in dispersions with the polymers PVP[J]. *Asian J Pharm*, 2006, 6 (4) : 343.

## Pharmacological researches of curcumin in solid dispersions on experimental gastric ulcer

MEI Xueting, XU Donghui<sup>\*</sup>, WANG Sheng, XU Shibo

(*Lab of Traditional Chinese Medicine and Marine Drugs, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China*)

**[ Abstract ] Objective:** To research the pharmacological action of curcumin solid dispersions (SDs, curcumin and polyvinylpyrrolidone (PVP) k30 in the ratio of 1 : 8) was investigated on experimental gastric ulcer in rats and mice. **Method:** Animals were randomly divided into several experimental groups. Each group consisted of 10 animals. The control group received PVP vehicle (720 mg · kg<sup>-1</sup>, po) throughout the course of the experiments. The treatment groups received different doses of curcumin SDs (equivalent to curcumin in 10, 30 and 90 mg · kg<sup>-1</sup>, po), and ranitidine (27 mg · kg<sup>-1</sup>, po) was used as the positive control. In acetic acid-induced gastric ulcers model, serum NO, plasma ET and gastric ulcer indexes of rats were measured after oral administration for 14 d. In rat ulcer model induced by pylorus-ligature, gastric volume, pepsin and gastric ulcer indexes of rats were measured after oral administration for 3 d and pylorus-ligature inducement for 16 h. Gastric ulcer indexes of mice were measurement after oral administration for 3 d and subcutaneous injection reserpine 10 mg · kg<sup>-1</sup>. **Result:** The results showed that curcumin SDs (equivalent to curcumin in 30, and 90 mg · kg<sup>-1</sup>, po) could reduce the ulcer indexes 4.59 ± 0.96 and 3.33 ± 0.93 (*P* < 0.01), and increase serum NO level (29.75 ± 5.90) mmol · L<sup>-1</sup> (*P* < 0.05) and (39.63 ± 12.73) mmol · L<sup>-1</sup> (*P* < 0.01), compared to gastric index 5.87 ± 0.48 and NO level (23.63 ± 5.73) mmol · L<sup>-1</sup> in control group. Compared to plasma ET (163.65 ± 63.84) ng · L<sup>-1</sup> in control group, curcumin SDs (equivalent to 90 mg · kg<sup>-1</sup>, po) could decrease plasma ET level (104.22 ± 63.84) ng · L<sup>-1</sup> (*P* < 0.05). Compared to gastric ulcer indexes 4.25 ± 0.71 of control group in rat pylorus-ligature model, curcumin SDs (equivalent to curcumin in 90 mg · kg<sup>-1</sup>) could reduce gastric ulcer to 2.38 ± 0.74 (*P* < 0.01). Compared to gastric volume (14.61 ± 1.80) mL, acidity of gastric juice (87.70 ± 9.84) mmol · L<sup>-1</sup>, and the activity of pepsin (408.63 ± 41.75) U · mL<sup>-1</sup>, curcumin SDs (equivalent to curcumin in 30, 90 mg · kg<sup>-1</sup>) could reduce gastric volume to (12.68 ± 1.46) mL (*P* < 0.05) and (9.99 ± 0.79) mL (*P* < 0.01), reduce acidity of gastric juice to (77.62 ± 8.34) mmol · L<sup>-1</sup> (*P* < 0.05) and (65.77 ± 8.19) mmol · L<sup>-1</sup> (*P* < 0.01), inhibit the activity of pepsin to (358.13 ± 37.44) U · mL<sup>-1</sup> (*P* < 0.05) and (292.13 ± 41.93) U · mL<sup>-1</sup> (*P* < 0.01). In reserpine-induced gastric ulcer model, curcumin SDs (equivalent to curcumin in 30, 90 mg · kg<sup>-1</sup>) could reduce gastric ulcer indexes to 3.88 ± 0.40 and 3.03 ± 0.64 (*P* < 0.01), compared to that of control group 5.13 ± 0.59. **Conclusion:** Several animal gastric ulcer models prove that curcumin SDs has anti-gastric ulcer effects by inhibiting gastric acid secretion, reducing gastric juice acidity, inhibiting the activity of pepsin and promoting healing of ulcer. These findings show a potential application of curcumin SDs as an anti-ulcerogenic drug.

**[ Key words ]** curcumin; polyvinylpyrrolidone; solid dispersion; anti-gastric ulcer

[责任编辑 古云侠]