

## ОРИГИНАЛЕН ПРИНОС

# Анализ на различни иновативни състави на куркумин за подобряване на сравнителната орална бионаличност при хора

Мартин Пурпура • Райън Лауъри • Якоб М. Уилсън • Хайдер Манън • Джералд Мунк • Валентина Размовски-Наумовски

Получено: 11 май 2016/Прието: 22 декември 2016

© Автор(и) 2017. Тази статия е публикувана с отворен достъп на Springerlink.com

### Резюме

**Цел** Оптималните ползи за здравето от куркумина са ограничени от неговата слаба разтворимост във вода и съответната лоша чревна абсорбция. Циклодекстрините (CD) могат да образуват инклузивни комплекси на молекулна основа с липофилни съединения, като по този начин подобряват разтворимостта във вода, дисперсността и абсорбцията. В това проучване ние изследвахме бионаличността на нова формула на  $\gamma$ -циклодекстрин куркумин (CW8). Тази формулировка се сравнява със стандартен неформулиран екстракт от куркумин (StdC) и две търговски готови формулировки с предполагаемата повишена бионаличност: формулировка на куркуминов фитозом (CSL) и формулировка на куркумин с етерични масла от куркума, извлечени от коренището (CEO).

**Методи** Дванадесет здрави доброволци участваха в двойно сляпо, кръстосано проучване. Плазмените концентрации на отделните куркуминоиди, които присъстват в куркумата (а именно куркумин, деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин) се определят на изходно ниво и на различни интервали след перорално приложение за 12-часов период.

**Резултати** CW8 показва най-високи плазмени концентрации на куркумин, деметоксикуркумин и общи куркуминоиди, докато приложението на CSL води до най-високи нива на бисдеметоксикуркумин. CW8 (39 пъти) показва значимо повишена относителна бионаличност на общите куркуминоиди (AUC<sub>0-12</sub>) в сравнение с неформулирания StdC.

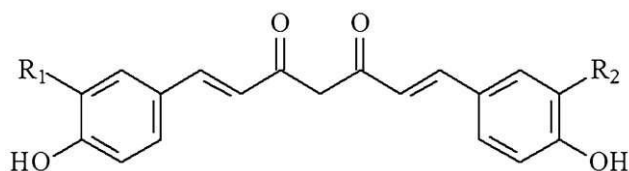
**Заключение** Представените данни предполагат, че формулата на  $\gamma$ -циклодекстрин куркумин (CW8) значително подобрява абсорбцията на куркуминоиди при здрави хора.

**Ключови думи:** Куркумин • Циклодекстрин • Бионаличност • Хора • Фармакокинетика на плазмата

### Въведение

*Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), известна като куркума, се използва в традиционната медицина в Китай и Индия в продължение на векове. Куркумата съдържа натурални биоактивни хидрофобни полифеноли, наречени куркуминоиди, от които куркумина е основният компонент, получен от корена на билката. Поради екстензивните си фармакологични активности, включително антиоксидантни, противоракови, антимикробни, противовъзпалителни и антидиабетни свойства [1-3], редица изследвания са проучвали начина на действие на куркумина в пътищата на сигнална трансдукция, свързани с възпалението. Например, куркуминът е показал, че инхибира IL-6-индуцираната STAT3 фосфорилация и последващата STAT3 ядрена транслокация в множество типове миеломни клетъчни линии [4]. В допълнение, проучванията на клетъчните култури показваха, че куркуминът предотвратява продуцирането на IL-1 и IL-6 индуцирани от TNF- $\alpha$  чрез взаимодействие с усилвателя на ядрен фактор капа-светлинна-верига на митогенно активирани В клетки (NF- $\kappa$ B) и митогенно активирани протеин кинази (MAPK) [5-7]. В клетъчните линии на микроглия и макрофагите, куркуминът също така показва инхибиторен ефект върху експресията на циклооксигеназа-2 (COX-2) и индуцируемата азотна оксидна синтаза (iNOS), което води до понижени нива на простагландин E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) и азотен оксид (NO) [7-9]. Освен това, куркуминът намалява производството на TNF- $\alpha$ , IL-1, -2, -8 и -12 в моноцити и алвеоларни макрофаги във форбол миристат ацетат (PMA) или липополизахарид (LPS) по зависим от концентрацията и времето начин, обрисуваш широкото му цитокин-потискащо противовъзпалително действие [10].

Докато ранните клинични проучвания при хора показаха благоприятни ефекти при рак [11, 12], артрит [13], имунна недостатъчност [14] и сърдечно-съдово здраве [15], неговият потенциал изглежда е ограничен поради лошата абсорбция [16]. Куркуминът е практически неразтворим във вода, което води до недостатъчно абсорбиране от червата и фармакокинетичните изследвания показват бърз метаболизъм и бързо системно елиминиране [17]. Максималната общата плазмена концентрация на куркумин в човека, посочена в литературата, е била  $3228,0 \pm 1408,2$  ng/ml, когато 410 mg куркумин е бил даден като течни мицели [18]. По-голямата част от перорално приетия куркумин се екскретира чрез фекалиите в неметаболизирана форма [19]. Абсорбираният калций и неговите метаболити бързо се превръщат във водоразтворими метаболити, глюкурониди и сулфати [20, 21]. Чрез NADPH-зависим механизъм и редукция, куркуминът се превръща в дихидрокуркумин и тетрахидрокуркумин (фиг.1) [22, 23].



**Куркумин** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>

**Деметоксикуркумин** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H

## Бисдеметоксикуркумин $R_1 = H, R_2 = H$

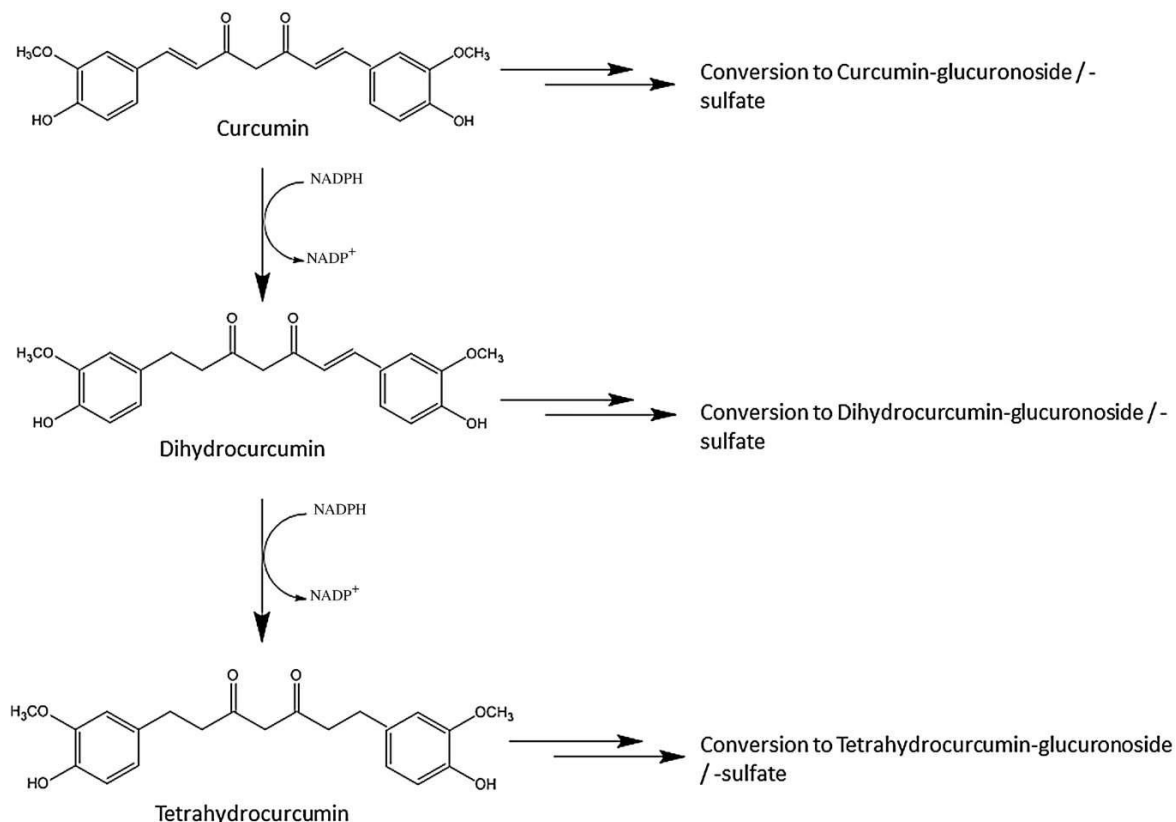
**Фигура 1** Химични структури на куркуминоидите. Основните куркуми, изолирани от ризома на куркума дълга, са куркумин, деметоксикуркумин (една  $O-CH_3$  група, заменена с  $H$ ) и бисдеметоксикурукумин (две  $O-CH_3$  групи, заместени с  $H$ )

Храносмилателната микробиота играе важна роля в метаболизма на куркумата и биотрансформацията, тъй като микробиотиците са способни да трансформират формулировки на куркумин, които съдържат приблизително 77% куркумин, 17% деметоксикуркумин и 6% бисдеметоксикуркумин (фиг. 2) в редица катаболити [16]. Например, Тан и кол. изследват метаболизма на дебелото черво на три куркуминоида [80,1%] куркумин, 15.6% деметоксикуркумин (DMC) и 2,6% бисдеметоксикуркумин (Bis-DMC)] в *in vitro* модел, съдържащ човешки фекални стартери. До 24% от куркумина, 61% от деметоксикуркумина (DMC) и 87% от бисдеметоксикурукумина (Bis-DMC) се деградират от фекалната микробита след 24 часа ферментация *in vitro*. Три основни метаболита, а именно тетраhydroкуркумин (THC), дихидроферолова киселина (DFA) и 1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-2-пропанол се откриват във ферментационните култури [24].

Циклодекстрините са широко използвани във фармацевтични и хранителни състави, за да образуват комплексна съставка на молекулна основа с липофилни съединения за подобряване на тяхната водна диспергируемост и съответната бионаличност [25].  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -циклодекстрините са семейство от циклични олигозахариди, състоящи се от нередуциращи хирални глюкозни изграждащи блокове, свързани в пръстен. Съответната структура на хидрофилните глюкозни строителни блокове е обърната навън и води до вътрешна липофилна кухина (Фиг. 3). Размерът и формата на кухината позволяват липофилната молекула да пребивава като „гост“. Съгласуването между циклодекстрина и гостоприемните молекули се получава от относително слабите сили на ван дер Ваалс, така че гостоприемната молекула може отново да се освободи при подходящи условия. Слабите сили на ван дер Ваалс в такива комплекси на включване оставят двете противоположни молекули непроменени и в равновесие. Около 30 различни фармацевтични продукти, съдържащи циклодекстрини, се предлагат на пазара в световен мащаб, а много хранителни продукти, козметични продукти и други търговски продукти съдържат циклодекстрини. В тези продукти, циклодекстрините се използват главно като разтворими агенти за увеличаване на водоразтворимостта на липофилните съединения [26].

За разлика от  $\alpha$ - и  $\beta$ -циклодекстриите,  $\gamma$ -циклодекстринът се смилва напълно от слюнната и панкреатична амилаза. При животни прилагането на токотриенол- $\gamma$ -циклодекстринов комплекс води до по-високи концентрации на токотриенол в плазмата и тъканта чрез повишаване на чревната абсорбция [27]. След еднократна доза от капсула, съдържаща инклузивния комплекс на коензим Q10 с  $\gamma$ -циклодекстрин, плазмените нива на коензим Q10 са значително повишени [28]. Тези открития показват, че комплексирането на липофилен куркумин с  $\gamma$ -циклодекстрин може да подобри неговата бионаличност.

Следователно, целта на това изследване е да се оценят плазмените нива на куркуминоиди (куркумин, деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин) при остро орално приложение на нов куркумин- $\gamma$ -циклодекстринов комплекс, съдържащ куркумин (CW8) в сравнение със стандартен неформулиран куркумин (STDC). В допълнение, формулата на куркумин фитозомата, състояща се от куркумин: соев лецитин: микрокристална целулоза в съотношение 1: 2: 2 (CSL) и формула, състояща се от куркуминоиди и съществени мазнини от коренището на куркума (CEO) също са включени в това проучване.

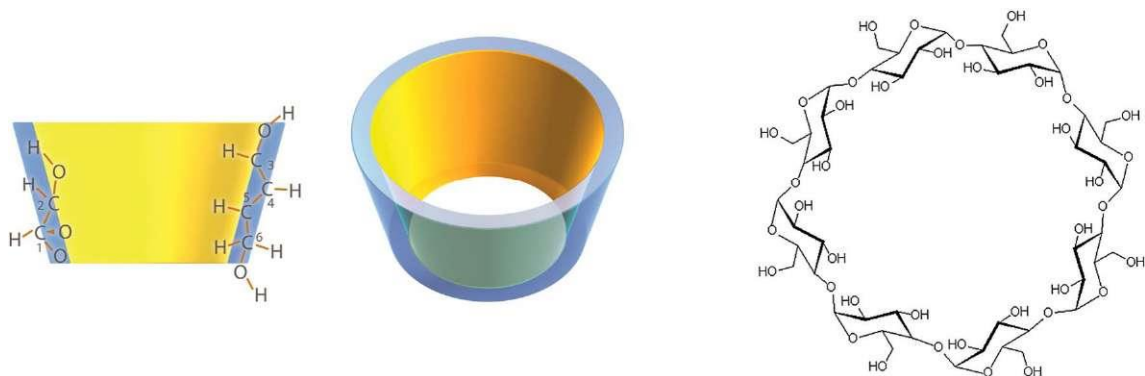


Превръщане на куркумин-глюкуронозид/сулфат

Превръщане на дихидрокуркумин-глюкуронозид /

Превръщане в тетраидрокурикумин-глюкуронозид/-сулфат

**Фигура 2** Метаболитен път на перорално приетия куркумин. Куркуминът и неговите редуцирани метаболити дихидрокуркумин и тетраидрокуркумин се конюгира с глюкуроноид и/или сулфат, което води до куркумин глюкуронозид, дихидрокуркумин глюкуронозид, тетраидрокуркумин глюкуронозид или съответния моносулфат и смесени сулфат/глюкуронозиди.



**Фигура 3** Фигура Структура на циклодекстрините. Циклодекстрините са циклични олигозахариди, състоящи се от ( $\alpha$ -1,4) свързани  $\alpha$ -D-глюкопиранозни единици. Съответната структура на хидрофилните глюкозни градивни блокове е с лице навън и води до липофилна кухина от вътрешната страна. Кохезията между циклодекстриновите и гостуващите молекули се създава от сравнително слабите сили на Ваал, така че молекулата-гост може да бъде отново освободена при подходящи условия.

## Материали и методи

### Субекти

От 15 субекта, назначени за това проучване, 12 участници завършиха изследването (11 мъже, 1 жена, на възраст от  $23,0 \pm 2,4$  години, височина  $182,9 \pm 6,1$  см, тегло  $86,2 \pm 4,2$  кг, 1 афроамериканец и 11 от бялата раса). Един доброволец не е започнал проучването и друг доброволец е напуснал изследването поради лични причини. По време на тегленето на кръв на друг доброволец му прилошало и затова му било препоръчано да не се пристъпва към изследването. Доброволците, участващи в проучването, трябва да отговарят на следните параметри на включване: 20-35 годишна възраст, да не са консумирали никакви добавки, съдържащи куркумин (куркумин, куркума и къри) или храни (куркумин, куркума и къри за 2 седмици преди началото на изследването; да са без анамнеза за някои от следните: хиперактивност, язви на стомаха/дванадесетопръстника, стомашно-чревни проблеми и проблеми с жлъчния мехур, липса на употреба на каквито и да е средства за разреждане на кръвта/анти тромботични средства или NSAID, да не са използвали преди средства за намаляване на кръвната захар, H2-блокери или инхибитори на протонната помпа, да са не-хипергликемични, не-хемофилични и не-диабетични, и да нямат известни алергии към соята. Институционалният ревизионен борд на Университета в Тампа е приел протокола (ИРБ, 02.07.2013, № 13-07) Преди всяко тестване всички участници са били подлагани на скрининг и са подписвали информирано писмено съгласие за гарантиране на допустимостта и желанието за доброволно участие.

### Изучавани материали

Имената на продуктите са били пропуснати поради липса на съгласие за оповестяване. Общата маса на всяка от препаратите беше съчетана с използване на

инертен пълнеж материал (микрокристална целулоза). На всички доброволци бяха предоставени по шест визуално идентични твърди гел капсули от всеки от изследваните материали за приемане, което доведе до 376 mg общо куркуминоиди за CW8, CSL и CEO и 1800 mg общо куркуминоиди за StdC в съответствие с проучваната доза, установена от Куомо и колектив. [19]. Преди изследването бяха анализирани капсули от всеки продукт и действителното количество куркуминоиди на порция беше изчислено като средни стойности (Таблица 1).

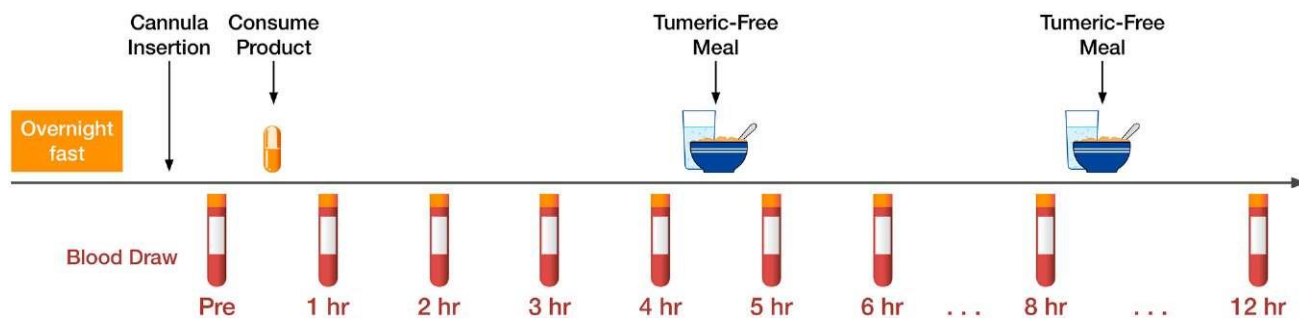
**Таблица 1** Аналитични резултати от изследваните материали

	StdC (mg)	CSL (mg)	CEO (mg)	CW8 (mg)
Куркумин	1774,2	354,0	355,2	348,0
Деметоксикуркумин	162,0	26,4	35,4	21,6
Бисдеметоксикуркумин	9,0	1,2	1,8	2,4
Общо куркуминоиди	1945,2	382,2	392,4	371,4

### Проучвателна процедура

Всичките 12 субекта са завършили четирите отделни изпитвания на четирите състава с девет кръвни проби, взети от всеки за един ден, в рандомизиран, двойно-сляп ред, разделени със 7-дневен период на промиване между проучването на всяка формула. Формулите на куркумина бяха заслепени чрез специален код, така че изследователите, както и доброволците, не знаеха коя формула беше консумирана по време на всяка сесия.

Преди всяко изпитване пациентът се явява в лабораторията сутрин след 10-часово постене през нощта (с изключение на водата). Кръвта се изтегля чрез въвеждане на катетър във вената на предмишницата от квалифициран флеботомист. Първо, беше получена изходната кръвна проба, последвана от едно от четирите лечения с дефинираните четири куркуминови препарата, които бяха консумирани с вода. След това бяха взети допълнителни кръвни проби в точки от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 и 12 часа след добавяне на продукта (Фигура 4). Тези времеви точки бяха избрани, тъй като предишни проучвания показват, че по-голямата част от храносмилането и усвояването са практически завършени в рамките на този период. Всеки път след тегленето на кръвна проба от 4 и 8 ч. се доставя стандартно хранене без куркумин. На първото време на хранене се сервират 40 g шоколадов суроватъчен протеинов изолат и 80 g минерална овесена каша, разтворени в 30 ml вода плюс 473 ml вода за пиене. На второто време на хранене се сервират 230 g пуешки гърди, 2 филийки пълнозърнест хляб, 15 g лек крем с бит каймак, 170 g гръцко кисело мляко и 473 ml вода за пиене. Всички участници останаха в лабораторията за целия експеримент, за да осигурят пълно съответствие.



**Фигура 4** Схематично представяне на протокола от проучването. Всеки доброволец съобщава на лабораторията сутрин между 6:00 и 10:00 часа след 10-часово нощуване (с изключение на водата). Във вената на предмишницата е въведен катетър от квалифициран флеботом. След уравнисяване се събира основна кръвна проба (преди) и след като една от четирите дози на лечение на куркумин се консумира с вода. След това се вземат кръвни проби на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 и 12-часови интервали след консумацията на продукта. След като бяха взети кръвните проби от 4 и 8 ч, беше осигурено стандартизирано хранене без куркума.

### Събиране на проби

При всяка точка на теглене на кръв от катетъра се изтеглят 6 ml кръв във вакуумирани епруветки, последвано от центрофугиране на кръвните епруветки при 2000Xg в продължение на 10 минути и плазмата се разделя на аликвотни части в Eppendorf епруветки за съхранение до анализ. За да се избегне разграждането по време на съхранението, пробите от кръвната плазма до анализа се съхраняват във фризер при температура -20°C.

### Приготвяне на пробата

Плазмените проби се приготвят съгласно (изискванията на) Куомо и колектив. [29]. 0,2 ml аликвотна част от плазмата се прехвърля в чиста микроцентрифужна епруветка и се залива със 100 µL от съдържаща 1000 U от β-глюкуронидаза/сулфатаза (EC 3.2.1.31) от *Helix pomatia* (Sigma, St. Louis, MO) в 0.1 M фосфатен буфер (pH 6.86) и 50 µL метанол за освобождаване на свободния куркумин [30], тъй като значително количество куркумин е глюкуронирано или сулфатно [23]. За ензимно хидролизиране на фаза-2 конюгати на куркуминоиди, получената смес се разбърква интензивно и се инкубира при 37°C в продължение на 1 час. В последващо инкубиране куркуминоидите се екстрахират с 1 mL етилацетат и сместа се разбърква в продължение на 1 минута, последвано от обработка с ултразвук във водна баня в продължение на 15 минути. След 6 минути центрофугиране при 15,000 g, полученият горен органичен слой се прехвърля в 2 mL микроцентрифужна епруветка и се изпарява при 30°C под отрицателно налягане в центрофугален концентратор за отстраняване на остатъчния разтворител. Тази процедура на екстракция се повтаря за общо две екстракции. След третиране на изсушения екстракт със 100 µL метанол, 10 µL се инжектират в HPLC-MS/MS. „Салбутамол“ (ISTD) беше използван като вътрешен стандарт за осигуряване на точност на данните. Всички стандартни

куркуминоиди за количествено определяне бяха закупени от „Сигма Елдридж“, САЩ.

### **Хроматографски анализ на куркуминоидите**

Пробите от кръвна плазма се анализират чрез детекция на тандемна масспектрометрия (HPLC/MS/MS), за да се определят нивата на куркумин, деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин, публикувани по-рано [29, 31, 32]. Накратко, HPLC-MS-MS се състои от Agilent 1290 HPLC система с Agilent 6460 тандемен мас спектрометър с ESI източник в положителен режим. Хроматографското разделяне се постига чрез колона Kinetex XB-C18 100 A (2.1 x 50 mm, 2.6 микрона), прикрепена към предпазител за ултра, C18, 2.1 mm пред-колона. Температурата на колонната камера се установява на 50°C. Масспектрометърът се поставя в режим на множествен контрол на реакцията (MRM) и преходите, наблюдавани, са  $m/z$  369.1 → 285.1 за куркумин, 339.1 → 255.1 за деметоксикуркумин и 309.1 → 225.0 за бисдеметоксикуркумин. Концентрирани изходни разтвори на куркумин, деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин се приготвят чрез разтваряне на 5.0 mg от всяко съединение в 200 mL метанол, за да се получат 25 mg/mL изходни разтвори. Калибриращите стандарти се приготвят ежедневно чрез заливане на 1 mL празна плазма с подходящ работен разтвор, при което се получават концентрации от 0.5, 50, 100, 200 и 500 ng куркумин, неговите производни и салбутамол на mL плазма, както е описано по-горе [32]. Направена е шест-точкова калибрационна крива, чрез изобразяване на съотношението на площта на пиковете ( $y$ ) на куркумин към вътрешния стандарт на салбутамол спрямо концентрацията на куркумин. Кривите на калибриране са линейни в човешката плазма с криви ( $r = 99$ ) за куркумин. Подобни резултати са получени за деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин. Анализът се провежда в градиент вода/метанол и скоростта на потока е 0.25 mL/min и подвижната фаза се смесва от два компонента: А – вода, съдържаща 0.1% мравчена киселина; В – метанол, съдържащ 0.1% фосфорна киселина. Градиентните условия бяха: 70% В при 0 и 3 минути, увеличавайки до 98% В в 5 и 6 минути, преди да се върне обратно на 70% В в 7,5 минути. Салбутамол (50 µg/mL) се използва като вътрешен стандарт, както е описано по-рано [32]. Празният човешки серум се събира заедно и се съхранява при -20°C преди употреба за приготвяне на калибрационни стандарти и проби за контрол на качеството.

### **Фармакокинетичен анализ**

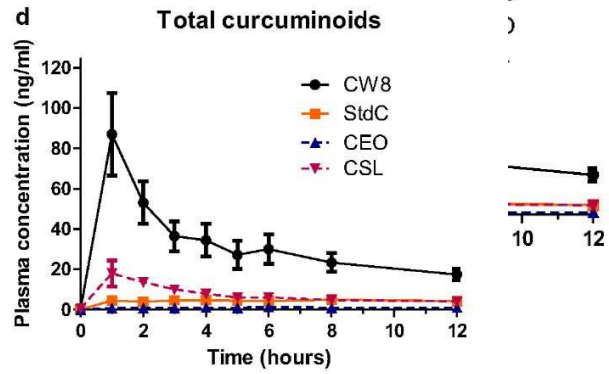
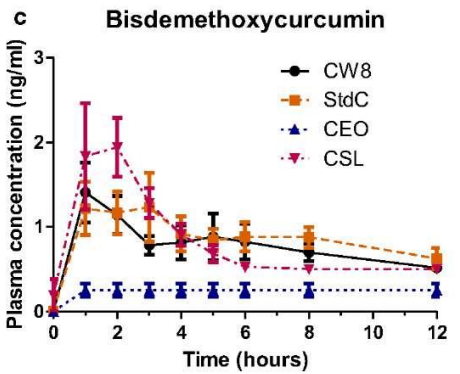
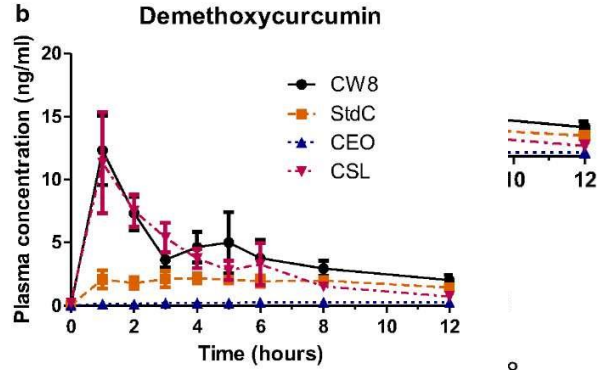
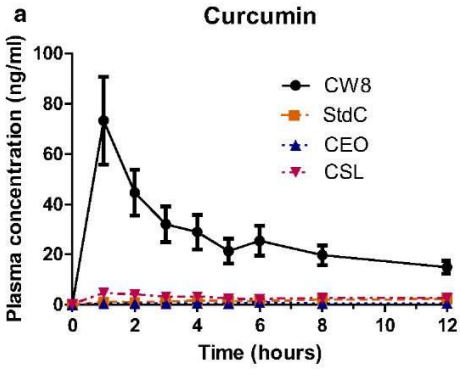
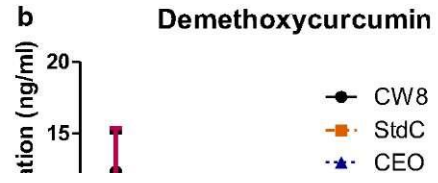
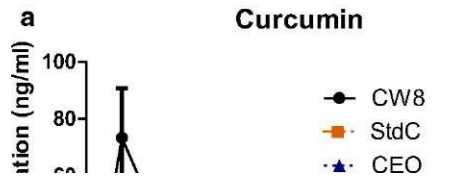
Фармакокинетичните данни след перорално приложение на формулировки на куркумин се изчисляват от Graphpad Prism 5 и PKSolver, като се използва анализ без отделения [33].  $C_{max}$  е максималната наблюдавана плазмена концентрация директно от средното време на плазмената концентрация на профила (медианата също е представена и площта под кривата на кривата на плазмената концентрация (AUC) е изчислена от определения интеграл от 0 до 12 часа от средни криви на плазмена концентрация, използвайки метода на добавката. StdC беше даден на участниците в



приблизително пет пъти по-голяма доза; Следователно, нормализираните стойности за StdC (където нормализираните стойности на C и AUC<sub>0-12</sub> се разделят на съдържанието на всеки куркуминоид за всеки препарат, разделен на съдържанието на куркумин в по-голямата доза StdC) са представени също в таблица 1 и използвани за статистическите сравнения. Изчисляването на t<sub>1/2</sub> не може да се осъществи за всички препарати с куркумин, тъй като редица формулировки не намаляват концентрацията си за 12-часовия период. И двете програми дават идентични стойности за AUC<sub>0-12</sub> и C<sub>max</sub> (метод на добавката).

### Статистически анализ

Данните са изразени като средно ±SEM и фармакокинетичен анализ, извършен като се използват Pk solver и Graph Prism 5 (@@Фигура 5). Представен е и втори анализ (Таблица 2), използвайки медианата (IQR), тъй като резултатът е не-нормален при всеки случай и тестът на Фридмън а Куркуминът, за да се изследва дали резултатът се различава значително от четирите вида формулировки на куркума, изследвани в това проучване. За медианата, тестът на Фридман е вид непараметрично-едномерна ANOVA. Ако е било значимо, параметрите се сравняват по двойки с непараметричния тест на знак, коригиран за множество сравнения, използвайки метода на Бонферони. Подписан ранг тест или двойствен t тест не беше извършен, тъй като резултатът за всяко сравнение не беше нито симетричен, нито нормален. От шестте възможни сравнения между два вида концентрации на куркумин, сравнението между CEO и CSL не беше от интерес. Това доведе до пет сравнения – между StdC и CW8, CEO и CSL и между CW8 и CEO, CSL. Общо, четирите повторени непараметрични ANOVA модели са монтирани за C<sub>max</sub> (по един за куркумин, деметоксикуркумин, бисдеметоксикуркумин и общо куркуминоиди). По подобен начин бяха пригодени за AUC четирите повторени измервания ANOVA.



@!

@@Фигура 5 – няма текста за нея.

б Demethoxycurcumin

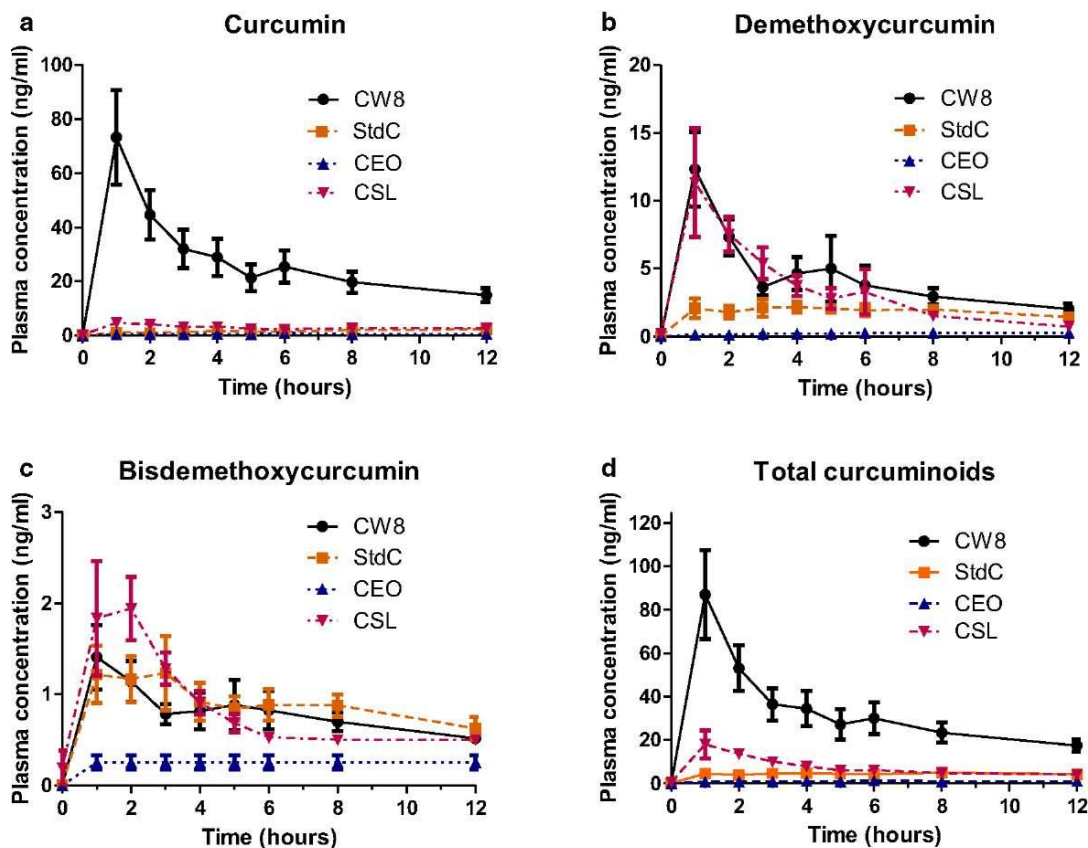
с

Бисдеметоксикуркумин

д

Общо

куркуминоиди



По вертикала и в четирите графика: Плазмена концентрация (ng/ml)

По хоризонтала: а Куркумин

б Деметоксикуркумин

в Бисдеметоксикуркумин

д Общо куркуминоиди

**Фигура 5** Кривите на плазмената концентрация на време за куркумин, деметоксикуркумин, бисдеметоксикуркумин и общо куркуминоиди за четирите различни формулировки на куркумин. Фармакокинетичните данни за отделните и комбинираните общи куркуминоиди за четирите формулировки са показани на кривата плазмена концентрация спрямо времето. От тези данни площта под кривата на плазмената концентрация (AUC), C<sub>max</sub>, t<sub>max</sub> и относителната абсорбция се изчислява за всеки куркуминоид и комбинираните куркуминоиди. Концентрациите (означава ± SEM) се изразяват в ng/mL и се отнасят до ензимно хидролизирани плазмени проби.

**Таблица 2** Фармакокинетични параметри на концентрациите на куркуминоид: площ под кривата плазмена концентрация времева крива относителна абсорбция за всяко третиране (AUC<sub>0-12h</sub>), C<sub>max</sub> и сравнителната абсорбция при всяко лечение.

Куркуминоид	Формулировка	AUC <sub>0-12</sub> (ng/mL h) (означ. ± SEM)	C <sub>max</sub> (ng/mL) (означ. ± SEM)	AUC <sub>0-12</sub> (ng/mL h) (средно, IQR)	C <sub>max</sub> (ng/mL) (средно, IQR)	T <sub>max</sub> (h)	Относителна абсорбция
Куркумин	StdC (5x доза)	19.7 ± 2.6	2.3 ± 0.4	19.7 (2.6)	0.3 (0.3)	12	1.0
	StdC (нормализиран)	3.9 ± 0.5	0.5 ± 0.1	3.5 (2.2)	0.0 <sup>f</sup> (0.5)	12	1.0

	CEO	6.7 ± 0.5	0.9 ± 0.3	5.8 <sup>f</sup> (2.2)	5.2 <sup>c</sup> (18.9)	6	1.7
	CSL	35.1 ± 4.5	4.7 ± 1.8	34.2 <sup>f</sup> (25.1)	10.4 <sup>c</sup> (13.6)	1	9.0
	CW8	327.7 ± 58.1	73.2 ± 17.5	293.4 <sup>c</sup> (205.8)	1.2 (0.4)	1	85.0 <sup>c</sup>
Деметокси- куркумин	StdC (5x доза)	21.8 ± 3.1	2.2 ± 0.4	21.8 (3.1)	0.1 (0.2)	4	1.0
	StdC (нормализиран)	3.8 ± 0.5	0.4 ± 0.1	3.7 (2.9)	0.3 <sup>c</sup> (0.5)	4	1.0
	CEO	2.5 ± 0.8	0.3 ± 0.1	1.3 <sup>f</sup> (5.5)	2.0 <sup>c</sup> (2.3)	6	0.5
	CSL	41.8 ± 7.5	5.0 ± 0.7	37.2 <sup>c</sup> (25.4)	1.1 <sup>c</sup> (1.8)	6	11.9 <sup>c</sup>
	CW8	51.5 ± 9.0	12.4 ± 2.7	43.6 <sup>c</sup> (43.1)	4.7 (0.8)	1	17.9 <sup>c</sup>
Бисдеметокси- куркумин	StdC (5x доза)	10.6 ± 1.4	1.2 ± 0.4	10.6 (1.4)	0.8 (0.7)	1	1.0
	StdC (нормализиран)	2.1 ± 0.3	0.2 ± 0.1	2.0 (1.8)	1.0 <sup>f</sup> (0.4)	1	1.0
	CEO	2.9 ± 0.8	0.3 ± 0.1	3.4 <sup>d</sup> (5.8)	8.1 <sup>ef</sup> (27.3)	n/a	1.4
	CSL	10.0 ± 1.0	1.9 ± 0.3	9.4 <sup>a</sup> (4.4)	67.8 <sup>c</sup> (93.2)	2	7.1 <sup>c</sup>
	CW8	9.4 ± 1.3	1.4 ± 0.3	8.0 <sup>c</sup> (4.6)	0.3 (0.3)	1	3.3 <sup>c</sup>
Общо куркуминоиди	StdC (5x доза)	52.1 ± 6.4	4.7 ± 0.8	52.1 (6.4)	0.0 <sup>f</sup> (0.5)	4	1.0
	StdC (нормализиран)	10.4 ± 1.3	0.9 ± 0.1	10.6 (6.5)	5.2 <sup>c</sup> (18.9)	4	1.0
	CEO	12.1 ± 1.4	1.1 ± 0.1	11.4 <sup>f</sup> (6.8)	10.4 <sup>c</sup> (13.6)	4	1.1
	CSL	86.9 ± 12.1	18.0 ± 6.4	88.1 <sup>f</sup> (45.9)	1.2 (0.4)	1	8.5
	CW8	388.6 ± 66.8	87.0 ± 20.5	343.7 <sup>c</sup> (293.9)	0.1 (0.2)	1	39.1 <sup>c</sup>

Данните се изразяват като средни ± стандартни грешки на средното или като медиално (IQR). Значенията бяха изчислени въз основа на медианите. *P* стойности по-малки от 0,05 (a), 0,01 (b) и 0,001 (c) се считат за статистически значими (на базата на сравнения с двойки, използващи подписан тест с корекции на Bonferroni) в сравнение с нормализираните StdC стойности. *P* стойности по-малки от 0,05 (d), 0,01 (e) и 0,001 (f) се считат за статистически значими (на базата на сравнения с двойки, използващи подписан тест с корекции на Bonferroni) в сравнение със стойностите на CW8 (моля, отбележете, че дозата на StdC беше приблизително 5 пъти по голяма от тази на другите три форми на куркумин и следователно нормализираната стойност се използва за статистическите сравнения).

## Резултати

За подобряване на бионаличността на куркумин са разработени много различни подходи, включително проектирането и разработването на наночастици, самосглобявания, наногелове, липозоми и сложно производство за устойчиво и ефективно доставяне на куркумин [32].

В нашето изследване сме сравнявали четири различни комерсиално налични формулировки на куркумин и анализирахме техния фармакокинетичен профил при 12 субекта в рандомизирано, двойно-сляпо, кръстосано проучване за 12-часов период от време.

Субектите консумират или 376 mg от общия брой куркуминоиди под формата на CW8, CEO и CSL или 1800 mg от съответния неформулиран StdC. И четирите лечения бяха добре поносими и не бяха съобщени нежелани реакции.

Плазмените нива на куркумин, деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин се измерват чрез HPLC-MS/MS анализ след третиране с Хеликс поматия глюкуронидаза/сулфатаза, за да се освободят родителските съединения от сулфатните и глюкоронидатните конюгати.

За всяка формулировка, фармакокинетичните данни за отделните куркуминоиди са изобразени на кривата концентрация на плазма спрямо времето (Фиг. 5). Областта под кривата на плазмената концентрация (AUC),  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  и относителната бионаличност ( $F$ ) се изчисляват за всеки куркуминоид в четирите формулировки (Табл. 2). Относителната бионаличност се изчислява чрез разделяне на измерената стойност на изпитвания продукт (CSL, CEO или CW8) чрез измерената стойност на референтния продукт (StdC), умножена по дозата на референтния продукт, разделена на дозировката на тествания продукт.

CW8 показва най-високите средни плазмени концентрации на куркумин и общи куркуминоиди ( $73,2 \pm 17,5$  и  $87,0 \pm 20,5$  ng/mL, респективно), докато CSL администрирането води до най-високите средни плазмени нива на бисдеметоксикуркумин ( $1,9 \pm 0,3$  ng/mL). За деметоксикуркумин, CW8 и CSL дават най-високи средни плазмени концентрации ( $12,4 \pm 2,7$  и  $5,0 \pm 0,7$  ng/mL, съответно). CW8 и CSL достигат  $C_{max}$  1 час след администрирането, докато другите формулировки показват забавено поемане (Фигура 5, Таблица 2).

### Обсъждане

Макар че повечето от формулировките са насочени към лекарствено доставяне, са проучени само няколко препарата за хранителни цели [29, 34, 35]. В близкото минало са проучени много различни стратегии за увеличаване на потенциалната бионаличност на куркумин, включително проектирането и разработването на наночастици, самосглобявания, наногелове, липозоми и мицели за устойчиво и ефективно доставяне на куркумин [36].

Един подход за увеличаване на абсорбцията на куркумин се състои от включването на повече компоненти от суровия корен на куркумин в препарата. Например, комбинацията от куркумини и етерични масла от коричка от куркума (CEO) е показала, че увеличава абсорбцията на куркумин с 6,9 пъти [34]. Известно е, че включването на куркумин в липофилна матрица (фитозоми, куркумин: соев лецитин: микрокристална целулоза 1: 2: 2, CSL) повишава относителната бионаличност на куркумин у хората с 19,2 пъти за куркумин самостоятелно [29]. Формулата на куркумин с комбинация от хидрофилен носител, целулозни производни и естествени антиоксиданти (Curcuwin, OmniActive) също показва, че значително се увеличава способността за биологично освобождаване на куркуминоид в сравнение с неформализирания стандартен куркумин [31].

В това проучване четири различни куркуминови препарата бяха тествани успоредно със същите хора. CW8 показва най-високи плазмени концентрации на куркумин, деметоксикуркумин и общи куркуминоиди, докато CSL приложението води до най-високи нива на бисдеметоксикуркумин. CW8 (39,1 пъти) показва значително повишена относителна бионаличност на общите куркуминоиди (AUC<sub>0-12</sub>) в сравнение с неформатираните StdC.

Куоомо и колектив. показват, че лецитинът в CSL увеличава усвояването на деметоксилираните форми на куркумин в кръвната плазма [29]. В стандартните формулировки на куркума, съдържанието на куркумин е четири пъти по-голямо от количеството на деметоксикуркумин; въпреки това, формулировката с лецитин (CSL)

води до това, че деметоксикуркуминът е основният плазмен куркуминоид, а не куркуминът. Това е емулирано в нашето изследване за CSL, докато куркуминът е основният плазмен куркуминоид за CW8.

Фармакокинетичните параметри за CSL обаче не могат да бъдат сравнени с тези в проучването на Куомо и колектив тъй като и двете проучвания показват значителни разлики в дизайна на изследванията [29]. Първата основна разлика е продължителността на вземането на кръвни проби. Куомо и кол. взема кръвни проби за период от 24 часа, в сравнение с 12-е часа в това проучване. Втората разлика е състоянието при храненето. Субектите в това проучване са гладни, докато Куомо и кол. дават храна с високо съдържание на мазнини с добавка на куркумин, която е показала, че забавя средното време на преминаване (МТТ) в стомашно-чревния тракт и следователно подобрява усвояването на мастноразтворимите съставки. По отношение на аналитичния метод, Куомо и кол. не са използвали вътрешен стандарт. Следователно, в това изследване е използван вътрешен стандарт „Салбутамол“ (ISTD), за да се подобри точността и надеждността на резултата от данните, както е описано по-рано от Лао и кол. през 2006 г. в проучване за абсорбция при плъхове [37]. Поради разликите в дизайна, абсолютните стойности между двете проучвания не могат да бъдат сравнени.

Друго изследване на абсорбцията на куркумин, проведено от Ентъни и кол. показва ефектите на формулировката на куркумин с етерични масла от куркума, извлечени от коренището и куркумин-лецитин-пиперин върху контрола на куркумин при 11 здрави доброволци в кръстосан дизайн с 3-седмичен период за промивка [34]. За аналитичния метод не се прилага вътрешен стандарт, което води до определяне на куркумин самостоятелно в кръвта до 8 часа след приложението. В резултат на това формулата показва 6.9-кратна по-висока абсорбция в сравнение с контрола, докато в това проучване беше демонстрирано много по-ниско увеличение с приблизително 30% относителна абсорбция на CEO.

При проучване на ескалацията на дозата, проведено от Лао и кол., безопасността и външният вид на куркумина се определят в кръвта на единична доза StdC, който се използва като контрола в това проучване [37]. Двадесет и четири здрави субекта (n = 24) консумират увеличаващи се единични дози от 500, 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 10 000 и 12 000 mg StdC. Изненадващо, в серума не е открит куркумин с до 8 g StdC. Само при дозово ниво от 10 000 и 12 000 mg при двама доброволци са довели до ниски нива на куркумин, докато в останалите субекти не може да бъде открит куркумин при нивата на дозата 10 000 или 12 000 mg [37]. Друг високо биодостъпен препарат за куркумин е Longwida, патентована технология, използваща технологията SLIP™ за твърди липидни частици (38). Novasol куркуминът е включен в биомиметичен мицел с диаметър приблизително 30 nm с предполагаема горчива бионаличност като липозомни препарати [18].

Абсолютните стойности на други проучвания не могат да бъдат сравнени с резултатите от това проучване, поради различия в субектите, аналитичен метод, дизайн на изследването и приложение на продукта.

Настоящото изследване е едно от малкото проучвания, при които са сравнени четири различни куркуминови препарата в същата кохорта от субекти и където са

анализирани и комбинирани различните куркуминоиди в състава на куркума (куркумин, бисдеметоксикурицин и деметоксикуркумин) подпомогнати от използването на вътрешен стандарт.

**Благодарности** Финансовата подкрепа бе предоставена от Wacker Chemie AG.

#### **Съответствие с етичните стандарти**

**Етични стандарти** Ръкописът е написан чрез приноса на всички автори, които са дали одобрение за окончателната версия на ръкописа.

**Конфликт на интереси** Авторите заявяват, че нямат конфликт на интереси.

**Отворен достъп** Тази статия се разпространява под условията на международния лиценз Creative Commons Attribution 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), който позволява неограничено използване, разпространение и възпроизвеждане на всякакви носители, при условие, че дават позоваване на първоначалния автор(и) и източника, както и даване на връзка към лиценза за Creative Commons и посочване дали са направени промени.

**Превод: Dr. Biomaster**

[www.drbiomaster.com](http://www.drbiomaster.com) | [www.curcumin.bg](http://www.curcumin.bg) | [office@drbiomaster.com](mailto:office@drbiomaster.com)

тел.: 02 952 60 70 и 0878 780 302