

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日  
2009年7月2日 (02.07.2009)

PCT

(10) 国际公布号  
WO 2009/079902 A1

- (51) 国际专利分类号:  
C07F 3/06 (2006.01) A61P 1/04 (2006.01)  
C07C 49/245 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)  
C07C 49/215 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)  
C07C 49/213 (2006.01) A61P 9/00 (2006.01)  
A61K 31/122 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)  
A61K 31/315 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)  
A61P 25/28 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2008/001086
- (22) 国际申请日: 2008年6月4日 (04.06.2008)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
200710032500.3  
2007年12月14日 (14.12.2007) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 中山大学 (SUN YAT-SEN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国广东省广州市新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 梅雪婷 (MEI, Xueting) [CN/CN]; 中国广东省广州市新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。 许东晖 (XU, Donghui) [CN/CN]; 中国广东省广州市新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。 许实波 (XU, Shibo) [CN/CN]; 中国广东省广州市新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。
- (74) 代理人: 广州粤高专利代理有限公司 (GUANGZHOU YUEGAO PATENT AGENT LIMITED CORPORATION); 中国广东省广州市珠江新城临江大道37号碧海湾D栋1001、1002室, Guangdong 510623 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则4.17的声明:  
— 发明人资格 (细则4.17 (iv))
- 本国际公布:  
— 包括国际检索报告。

(54) Title: THE PREPARATION AND USE OF A CURCUMIN-ZINC COMPOUND AND ITS SOLID DISPERSION

(54) 发明名称: 姜黄素-锌化合物及其固体分散体的制备与应用

(57) Abstract: A curcumin-zinc compound and its solid dispersion are prepared. The uses of the curcumin-zinc compound and its solid dispersion are also described. Curcumin and zinc acetate were respectively dissolved in an organic solvent. The solution of zinc acetate was dropwise added to the solution of curcumin under nitrogen. The mixture was stirred and refluxed, then cooled and filtered. The precipitate was collected and washed, then dried under vacuum to give the curcumin-zinc compound. The curcumin-zinc compound and polyvinylpyrrolidone are dissolved in anhydrous alcohol in a mass ratio of 1:1~1:28 under nitrogen. The mixture was homogenized and filtered. The filtrate was processed by spray drying to give the solid dispersion of the curcumin-zinc compound.

(57) 摘要:

一种姜黄素-锌化合物及其固体分散体的制备与应用。将姜黄素和乙酸锌溶于有机溶剂, 氮气保护下, 将含有乙酸锌的有机溶液滴加到含有姜黄素的有机溶液中, 搅拌回流, 冷却过滤, 收集沉淀物, 洗涤, 真空干燥, 得到姜黄素-锌化合物。将姜黄素-锌化合物和聚乙烯吡咯烷酮 K30 按质量比 1: 1~1: 28 混合溶解于无水乙醇中, 通氮气保护, 均质, 过滤, 滤液喷雾干燥即可得到姜黄素-锌化合物固体分散体。

WO 2009/079902 A1

## 姜黄素-锌化合物及其固体分散体的制备方法与应用

### 技术领域

本发明涉及医药组合物领域，具体涉及姜黄素-锌化合物结构、姜黄素-锌化合物及其固体分散体制备方法与医药及保健用途。

### 背景技术

总姜黄素[包括姜黄素(curcumin)、去甲氧基姜黄素(demethoxycurcumin)、双去甲氧基姜黄素(bisdemethoxycurcumin)]，主要活性成分是姜黄素(curcumin)，具有很好的清除自由基、抗氧化、抗突变、延缓衰老、防辐射、抗病毒、防癌抗癌、降血脂和降胆固醇、抗动脉粥样硬化、治疗抑郁等多种保健及药理作用。

虽然姜黄素具有广泛的药理学作用，但极难溶于水，同时生物利用度极低，在碱性条件或光照条件下不稳定，大大局限了其应用于药物开发。给大鼠口服  $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  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；动物药理实验给予姜黄素的方式采用腹腔注射，需 0.5% 二甲基亚砷溶解，而且溶液不稳定，表明由于姜黄素的水溶性差、口服吸收差、生物利用度低，限制其合理应用在人体患者。姜黄素在碱性溶液中容易降解，在 pH7.4 的磷酸盐缓冲液中，姜黄素很快降解，其 426nm 的吸收值 5min 后降低到约 50%，10min 后只剩 10%，最后溶液是无色的。Atanu Barik 有报道应用姜黄素-铜化合物用于清除自由基反应，由于姜黄素-铜化合物水溶性极差、同时生物利用度极低，局限姜黄素-铜化合物在整体水平发挥作用。国内外查新表明目前并无应用姜黄素-铜化合物的医药研究报道，更无应用水溶性聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 于姜黄素-锌化合物制备固体分散体及其医药用途的报道。

由于生活水平的提高和医疗保健的不断进步，人均寿命越来越长，使世界人口老龄化的趋势越来越明显。据中国老年协会专家指出，我国老年人口迅速增长，1990 年以来，我国老年人口以平均每年 3.32% 的速度增长，到 2006 年底，全国 60 岁以上老年人口总数已达到 1.2 亿，约占人中总数的 9.5%。我国已成为“老年型”国家，随着老年人口增加，对老年性疾病的防治问题也越来越突出。因此，研制开发新的抗衰老及防治常见老年性疾病的新药，已成为当今医药学界的一个研究热点。

锌为体内多种酶的重要组成成份，具有促进生长发育，改善味觉，加速伤口愈合、提高免疫功能、抗氧化等作用，缺锌可引起的生长发育迟缓，营养不良，厌食症、异食癖以及口腔溃疡。

老年性痴呆症、记忆衰退、高血脂症、脑缺血、动脉硬化、血栓形成、血

小板聚集、糖尿病、病毒性传染病等是常见的老年性疾病，而且许多情况下是多种病症同时出现于同一病人身上。但是，现有的治疗这些疾病的药物普遍存在着适用症单一、疗效不尽理想的问题。因此，能否研究开发一种对上述多种老年性疾病具有良好综合治疗效果的药物，这对方便老年性疾病的防治、保证老年人健康将具有十分重要的意义。

### 发明内容

本发明的目的是针对现有老年性疾病治疗中普遍存在药物适用症单一、疗效不尽理想的问题，提供一种疗效显著、用途广泛的姜黄素-锌化合物及其固体分散体制剂。

本发明的另一个目的是提供上述姜黄素-锌化合物及其固体分散体的制备方法。

本发明的进一步目的是提供上述姜黄素-锌化合物固体分散体在制备用于治疗免疫功能低下、胃溃疡、老年性痴呆症、肾衰、高血脂症、动脉硬化、糖尿病、脑缺血、记忆衰退、心肌缺血、炎症、病毒感染、肿瘤、自由基损伤、肝损伤、抑郁症的药物或保健品中的应用。

为了实现上述目的，本发明采用如下技术方案：

本发明利用姜黄素分子中相邻的两个羰基与乙酸锌形成络合物，并利用聚乙烯吡咯烷酮（PVP-k30）作为载体，利用姜黄素分子中的活泼氢与 PVP 分子中的羰基 O 以氢键结合在一起，形成姜黄素-锌化合物固体分散体，大大提高姜黄素-锌化合物的水溶性，发挥姜黄素与  $Zn^{2+}$  离子的协同作用，具有更强的药理作用。

姜黄素-锌化合物固体分散体中姜黄素-锌与 PVP-k30 的质量比为 1: 1~1: 28，优选比例为 1: 3~1: 18，最佳比例为 1: 5~1: 16。

将姜黄素和乙酸锌按摩尔比 1: 1~1: 5 分别溶于有机溶剂（如乙醇、丙醇等），于氮气保护或在无氧 45~70℃ 环境下，将含姜黄素的有机溶液滴加到含乙酸锌的有机溶液中，搅拌回流 3~5 小时，冷却过滤，收集沉淀物，分别用 5~15℃ 无水乙醇洗涤沉淀物 4~6 次，沉淀物在真空干燥，得到姜黄素—锌化合物。将姜黄素-锌化合物和聚乙烯吡咯烷酮按比例混合溶解于无水乙醇溶液中，通氮气保护，经高压均质机均质，过滤，滤液喷雾干燥得姜黄素-锌化合物固体分散体。

姜黄素-锌化合物固体分散体可提高姜黄素-锌化合物的水溶性，疗效高于姜黄素的药理作用，在制备用于治疗免疫功能低下、胃溃疡、老年性痴呆症、肾衰、高血脂症、高胆固醇症、动脉硬化、糖尿病、脑缺血、记忆衰退、心肌缺血、炎症、病毒感染、肿瘤、自由基损伤、肝损伤、抑郁症的药物或保健品中具有重要

的作用。

姜黄素-锌化合物固体分散体可与普通常规的药用敷料配合（如十二烷基硫酸钠(SDS)、微晶纤维素、硬脂酸镁等），经常规方法而制得；可根据需要制成适当的剂型，如片剂、粉剂、颗粒剂、胶囊剂、膏剂、糖浆剂、针剂、输液、或栓剂等。通常以口服方式使用，当然也可以采用皮肤外用给药等其它给药方式；姜黄素-锌化合物每天使用剂量一般为约 1~1000 毫克，成年人常用量为每天 20~900 毫克，最常用剂量为 50~700 毫克。每天一次或分数次使用。

本发明与现有技术相比，具有如下有益效果：

- 1.姜黄素-锌化合物为新化合物，提高提内含锌抗氧化酶活性，发挥姜黄素与锌离子的协同作用，大大提高了原有姜黄素的药理作用。
- 2.姜黄素-锌化合物固体分散体提高姜黄素-锌化合物水溶性，解决了姜黄素生物利用度低、吸收差等缺点，本发明的姜黄素-锌化合物固体分散体用途广泛，在治疗各种老年性疾病中疗效显著；克服了现有老年性疾病治疗中普遍存在药物适用症单一、疗效不尽理想的问题。
- 3.本发明的制备方法简单，应用前景广阔。

#### 具体实施方式

##### 实施例 1 姜黄素-锌化合物的制备

姜黄素，99.6%纯度，由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。二水合乙酸锌（简称：乙酸锌），分析纯，由广州化学试剂批发部提供。

将 4.8 克姜黄素溶于 300ml 无水乙醇中，2.9 克乙酸锌溶于 150ml 无水乙醇中，将乙酸锌乙醇溶液滴加到姜黄素乙醇溶液中，边滴加边搅拌，回流加热 3 小时，至沉淀完全，抽滤收集沉淀物，重新用 300ml 5℃无水乙醇震荡悬浮沉淀物，5000rpm 离心 5min，收集沉淀物，再用 300ml 无水乙醇震荡悬浮，5000rpm 离心 5min，得 4.9 克姜黄素-锌化合物。

##### 实施例 2 姜黄素固体分散体、姜黄素-锌化合物固体分散体的制备

姜黄素（Curcumin），姜黄素-锌化合物，纯度为 99.6%，由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP-k30(简称 PVP)，进口分装，由广州化学试剂批发部提供。

将 10.0 克姜黄素溶于 400ml 含有 80.0 克 PVP 的无水乙醇溶液中，通氮气保护，经高压均质机均质，喷雾干燥得姜黄素-锌固体分散体 86.7 克。

将 10.0 克姜黄素-锌化合物溶于 400ml 含有 80.0 克 PVP 的无水乙醇溶液中，通氮气保护，经高压均质机均质，喷雾干燥得姜黄素-锌固体分散体 86.2 克。

##### 实施例 3 对小鼠急性毒性试验

实验样品：姜黄素-锌固体分散体（质量比姜黄素-锌：PVP：SDS=1：6），由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。

实验动物：NIH 系小鼠 18-22g，60 只，雌雄各半，由广东省医学实验动物中心提供。

#### 方法与结果：

选取健康 NIH 系小鼠，体重  $20 \pm 2g$ ，20 只，雌雄各半，对小鼠禁食不禁水 12h 后，对应每组小鼠 1 次灌胃含有姜黄素-锌固体分散体（200mg/0.5ml）溶液 0.8ml，连续观察 7d，小鼠活动正常、敏捷，未引起死亡或异常反应，限于给受试样品体积不能再增大，故进行最大耐受量试验。

另选择健康 NIH 系小鼠 20 只，体重  $20 \pm 2g$ ，雌雄各半，对小鼠禁食不禁水 12h 后，对应每组小鼠 1 次灌胃装姜黄素-锌固体分散体（200mg/0.5ml）溶液 0.5ml，每隔 3h 灌胃一次，共 4 次，此后连续观察 7d，此期间让小鼠自由进食和饮水，观察期间小鼠活动正常，未引起死亡或异常反应。

小鼠限于给受试样品体积不能再增大不能测出  $LD_{50}$ 。故改作最大耐受量试验，结果如下：小鼠灌服姜黄素-锌固体分散体最大耐受量不少于  $40g \cdot kg^{-1}$  体重，相当给予姜黄素-锌最大耐受量不少于  $5.7g \cdot kg^{-1}$  体重，在给受试样品观察期间，小鼠活动敏捷，毛皮光滑，未见死亡。

由此可知，姜黄素-锌固体分散体（质量比姜黄素-锌：PVP=1：6）的最大耐受量不少于  $40g \cdot kg^{-1}$  体重，相当给予姜黄素-锌最大耐受量不少于  $5.7g \cdot kg^{-1}$  体重，属于实际无毒级，服用安全。

### 实施例 4 对心肌缺血的保护作用及清除自由基作用

#### 一、实验样品

姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌：PVP，质量比为 1：6)，姜黄素固体分散体(姜黄素：PVP，质量比为 1：6)，制备方法同实施例 2，由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP)，进口分装，由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。

SD 大鼠，广东省医学实验动物中心提供；MS-302 多媒体生物信号记录分析系统（广东生命科学学院）；WZ-50D 型微量注射泵（浙江医科大学医学仪器厂）

#### 二、实验方法

试验前测定 SD 大鼠心电图和胸导联，弃去 T 波、ST 段位移有异常和心律失常者。选取合格大鼠，体重  $210.1 \pm 20.0g$ ，雌雄兼用，每组 8 只大鼠，随机分为空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组，空白对照组大鼠

灌胃给予等量 PVP 溶液，其余各组大鼠分别对应灌胃给予姜黄素、姜黄素-锌含量为 80mg/Kg 体重，30min 后乙醚麻醉，记录心电图后颈背部皮下注射异丙肾上腺素(Isoproterenol, ISO) 2mg/kg，30min 后再记录心电图 1 次，24h 和 48h 后再一次灌胃受试品 30min 后，各组按上述方法重复给 ISO 并记录心电图。72h 后再一次灌胃受试品 30min 后，大鼠眼眶取血并离心分离血清，处死大鼠，剪取心尖以 4℃生理盐水制成 10%的心肌组织匀浆备用。

对  $\Sigma$ ST 段位移幅度的影响：

测量第一次给 ISO 前、第一、二、三次皮下注射 ISO 后 30min 各鼠 ST 值，计算  $\Sigma$ ST 的 mv 数均值作为心肌损伤程度的指标并做 t 检验。对血清中 CK、LDH 和 MDA 的影响：

用试剂盒测血清中的丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和肌酸激酶 (CK) 的变化。

### 三、结果

#### 1 对 $\Sigma$ ST 段的影响

ST 段的变化幅度可基本反映心肌缺血的严重程度，而  $\Sigma$ ST 段可作为缺血程度的定量指标。皮下注射 ISO 诱发大鼠心肌缺血后，ST 段明显抬高，显示大鼠心肌有严重的心肌缺血损伤。姜黄素-锌 固体分散体对能降低皮下注射 ISO 引起的 ST 段的异常抬高程度 ( $\Sigma$ ST 平均位移幅度)，优于姜黄素固体分散体。如表 1。

表 1 对异丙肾上腺素致大鼠心肌损伤模型中  $\Sigma$ ST 的影响 ( $\bar{x}\pm s$ , n=8)

| Group  | $\Sigma$ ST/mv |               |            |
|--------|----------------|---------------|------------|
|        | 30min          | 24h           | 48h        |
| 空白对照组  | 1.40±0.28      | 1.25±0.28     | 1.04±0.23  |
| 姜黄素-锌组 | 0.92±0.27*##   | 0.81±0.16**## | 0.76±0.22* |
| 姜黄素组   | 1.26±0.15      | 1.05±0.19     | 0.89±0.20  |

与空白对照组相比，\*P<0.05，\*\*P<0.01；与姜黄素组比较，#P<0.05，对血清中 CK、LDH 和 MDA 的影响：

大鼠皮下注射 ISO 后，血清中的 CK、LDH 和 MDA 均明显上升，显示由于心肌组织的损伤而使心肌细胞中的 CK 和 LDH 漏出到血液中，血清中的脂质过氧化物(Lipid per-oxidation, LPO)大量增加。结果显示受试化合物可明显抑制 CK 和 LDH 从心肌细胞内向血清中漏出，显著抑制 Iso 致大鼠血清中 MDA 的异常升高，对自由基损伤具有保护作用。

结果表明：姜黄素-锌固体分散体对 ISO 致心肌缺血、自由基损伤具有保护作用, 优于姜黄素固体分散体。

表 2 对 Iso 致心肌损伤大鼠血清的影响 ( $\bar{x}\pm s$ , n=8)

| 组别     | CK<br>(U/L)      | LDH<br>(U/L)     | MDA<br>(nmol/ml) |
|--------|------------------|------------------|------------------|
| 空白对照组  | 382.1±30.7       | 337.4±35.2       | 58.4±5.8         |
| 姜黄素-锌组 | 289.3±25.2***### | 240.6±21.9***### | 28.6±6.2***###   |
| 姜黄素组   | 340.5±20.9**     | 298.9±26.4***    | 39.1±5.2***      |

与空白对照组相比, \*\*\*P<0.001; 与姜黄素组比较, #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001

### 实施例 5 对脑缺血、记忆衰退模型的保护作用

#### 一、实验材料

姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 10), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 10), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。NIH 系小鼠, 由广东省医学实验动物中心提供。

#### 剂量实验方法与结果:

NIH 小鼠, 18-22g, 以戊巴比妥钠  $60\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 麻醉, 进行手术。将小鼠仰卧位固定, 颈部正中切开皮肤约 7mm, 分离两侧颈总动脉, 并套以“O”号丝线, 缺血时用动脉夹夹闭双侧颈总动脉 2min, 造成大脑缺血状态, 缺血结束, 松开动脉夹, 恢复血液再灌注, 短时间歇 5min, 如此反复二次。阻断颈总动脉血流后, 缝合切口。加上尾端放血, 放血量为总血量的 10%以下。术毕从腹腔内注入适量的生理盐水以补充血容量。假手术组麻醉后分离双侧颈总动脉但不阻断血流, 亦不放血。

双侧颈总动脉完全阻断后, 首先出现惊厥, 体温降低, 呼吸减慢, 最后翻正反射消失。实验动物以体温降低和翻正反射消失为缺血阳性指标, 无典型缺血指征者弃之不用。在缺血过程中、或手术后均会有动物死亡。恢复血液灌注后, 动物翻正反射逐渐恢复, 呼吸加快, 3-5h 基本恢复正常活动。手术后的动物随机分为 4 组: 假手术组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组、空白对照组, 每组 10 只。每天给药一次, 空白对照组小鼠灌胃给予等量 PVP, 其余各组小鼠分别对应给予姜黄素、姜黄素-锌 含量为  $90\text{mg}/\text{Kg}$  体重, 按表 3 剂量灌胃, 连续给药 15 天。15 天后进行记忆试验。

表3 对脑缺血再灌注损伤小鼠脑记忆避暗实验的作用 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

| 组别     | 剂量<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 到达暗箱的潜伏期(秒)   |                | 错误次数<br>(n)  |
|--------|------------------------------|---------------|----------------|--------------|
|        |                              | 学习            | 记忆             |              |
| 假手术组   | --                           | 37.6 ± 15.2** | 58.3 ± 20.5*** | 3.5 ± 2.0*** |
| 空白对照组  | --                           | 17.2 ± 10.2   | 28.5 ± 12.5    | 7.9 ± 1.6    |
| 姜黄素-锌组 | 90                           | 33.8 ± 6.2**# | 49.3 ± 14.7**# | 4.1 ± 2.3**# |
| 姜黄素组   | 90                           | 26.3 ± 5.8    | 37.4 ± 9.4     | 6.3 ± 2.1    |

与空白对照组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与姜黄素组比较, # $P < 0.05$

从表3的结果显示, 假手术组与空白组相比, 进入暗箱的潜伏期明显延长, 受电击次数明显减少( $P < 0.01$ ), 说明脑缺血再灌注对小鼠的学习记忆功能造成了明显损害。与空白对照组相比, 姜黄素-锌固体分散体能够明显延长进入暗箱的潜伏期, 同时能显著降低错误次数, 对脑缺血、记忆衰退具有保护作用。姜黄素-锌固体分散体对脑缺血、记忆衰退具有保护作用, 优于姜黄素固体分散体。

## 实施例6 对机体免疫功能的影响

### 一、实验材料

姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。NIH 系小白鼠, S.D.系大白鼠, 由广东省医学实验动物中心提供; 家鸡, 由中山大学菜市场购得。

### 二、实验方法

#### 对小鼠胸腺和脾脏的作用

选择健康 NIH 系小鼠 40 只, 18~22g, 雌雄各半, 随机选取 10 只作为正常对照组, 雌雄各半, 其余 30 只实验时腹腔注射环磷酰胺 60mg/Kg 体重, 随机分成 3 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 即空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组。灌胃给受试样品, 空白对照组及正常对照组小鼠给予同量 PVP, 姜黄素组、姜黄素-锌固体分散体组小鼠分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 50mg/Kg 体重相应制剂受试样品, 连续给受试样品 30d, 第 30d 各组小鼠禁食一天, 但提供饮水。第 31d, 处死各组小鼠, 称量各组小鼠的体重, 胸腺及脾脏重量, 计算胸腺指数及脾脏指数, 比较各组间的差异。

### 三、实验结果

表 4 对小鼠胸腺和脾脏的作用 ( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 项目<br>组别 | 剂量<br>(mg/kg) | 胸腺指数<br>(mg/10g 体重) | 脾脏指数<br>(mg/10g 体重) |
|----------|---------------|---------------------|---------------------|
| 空白对照组    | —             | 13.21±4.35          | 47.24±8.35          |
| 正常对照组    | —             | 28.14±5.65***       | 75.31±12.25***      |
| 姜黄素-锌组   | 50            | 22.84±5.37***#      | 61.24±15.24***#     |
| 姜黄素组     | 50            | 17.62±4.52          | 48.27±11.34**       |

与空白对照组相比, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001。与姜黄素组比较,#P<0.05

与空白对照组相比, 受试物能够对小鼠胸腺指数及脾脏指数显著升高, 具有提高免疫功能作用。姜黄素-锌 固体分散体对小鼠胸腺指数及小鼠脾脏指数升高优于姜黄素固体分散体。

#### 实施例 7 对肾功能衰竭的作用

##### 一、实验材料

1.1 动物: NIH 小鼠, 18-22g, 雌雄各半, 由广东省医学实验动物中心提供。

1.2 姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。

##### 二、实验方法

###### 内毒素致动物急性肾衰模型

选取小鼠 40 只, 随机分为 4 组, 分别为正常对照组、病理模型组、姜黄素组、姜黄素- 锌固体分散体组, 每组 10 只。正常对照组、病理模型组小鼠分别灌胃给予等量 PVP 溶液, 姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组小鼠分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 50mg/Kg 体重相应制剂受试样品, 然后立即尾静脉注射内毒素 0.06 g/kg (正常对照组注射等量的等量 PVP 溶液)。5 h 后, 小鼠摘眼球取血, 测定血清尿素氮(BUN)和肌肝(Cr)浓度。取各小鼠一只肾分别制成 100 ml·L<sup>-1</sup> 匀浆, 测定谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。

##### 三、实验结果

与模型组相比, 姜黄素-锌 固体分散体能够有效抑制因内毒素致小鼠血清 BUN、Cr 值升高, 提高 GSH-Px 酶活性, 对内毒素致动物急性肾衰具有保护作

用，优于姜黄素固体分散体。

表 5 受试化合物对急性肾功能衰竭的作用( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 项目<br>组别 | 剂量<br>mg/kg |                         |                          |                           |
|----------|-------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
|          |             | Cr/10mg•L <sup>-1</sup> | BUN/10mg•L <sup>-1</sup> | GSH-Px/nU•L <sup>-1</sup> |
| 正常对照组    | --          | 17.5±2.4***             | 247.5±23.2***            | 50.2±22.4***              |
| 病理模型组    | --          | 70.2±20.1               | 420.3±27.8               | 28.7±10.6                 |
| 姜黄素-锌组   | 50          | 35.3±11.4**##           | 283.0±25.4***###         | 34.5±9.2 **##             |
| 姜黄素组     | 50          | 48.2±7.2***             | 362.4±31.7***            | 22.4±5.9*                 |

与病理模型组相比， \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.与姜黄素组比较, ##P<0.01

**实施例 8 对治疗老年性痴呆症的药理作用**

一、实验样品：姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌：PVP，质量比为 1：8)，姜黄素固体分散体(姜黄素：PVP，质量比为 1：8)，制备方法同实施例 2，由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP)，进口分装，由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。NIH 系小鼠 18-22g，60 只，雌雄各半，由广东省医学实验动物中心；实验药品：致老年痴呆药物 Amyloid β-蛋白(Aβ 1-42 片段)，分子量 4514.1，Sigma Chemical Co. 出品，产品号[107761-42-2]。

二、方法与结果：

NIH 系小鼠，40 只，雌雄各半，随机分为 4 组，每组 10 只，分别为正常对照组、空白模型组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组，每组 10 只。正常对照组、空白模型组小鼠分别灌胃给予等量 PVP 溶液，姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组小鼠分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 50mg/Kg 体重相应制剂受试样品。各组 NIH 小鼠（正常组除外），每只小鼠腹腔注射 0.45 %戊巴比妥钠 0.1 ml / 10g 体重麻醉。碘酒、酒精消毒头顶皮肤后，纵向正中切开颅顶皮肤，暴露颅骨，在 bregzna 点后 2.0mm，左右旁开 2.5mm 处用注射器钻一小孔，以 5μl 注射器缓速注入 2μl Aβ溶液，浓度为 7μg/μl，30 分钟内注射完毕，留针 5 分钟，取出注射器，缝合皮肤。造模次日开始给药，连续 30d 每天灌胃一次。

跳台法实验：

跳台法实验的原理是：反应箱底铺有通 36V 电的铜栅，动物受到电击。其正常反应是跳上箱内绝缘的平台以避免伤害性刺激。多数动物可能再次或多次跳至铜栅上，受到电击又迅速跳回平台，如此训练 5min，并记录每只小鼠受到电击的次数，即错误次数，以此作为学习成绩。24h 后重复作试验，此即记忆保持试验。记录受电击的动物数，第一次跳下平台的潜伏期和 3min 的错误次数。具体做法是：给药末次后次日开始训练。将动物放入反应箱内适应环境 3min，然后立即通以 36V 的交流电。动物受到电击，其正常反应是跳回平台，以躲避伤害性刺激。小鼠双足同时接触铜栅为触电，视为错误反应。多数动物可能再次或多次跳至铜栅上，受到电击又迅速跳回平台上，如此训练 5min（同一试验中所有小鼠训练时间相同），记录每鼠后 5min 的错误次数，以此作为学习成绩。24h 后重复作试验，即记忆保持试验。记录动物第一次跳下平台的潜伏期和 3min 内的错误总数，同时计算动物出现错误反应的频率。

表 6 对 A $\beta$ 所致小鼠痴呆模型跳台法实验的作用 ( $\bar{x}\pm SD$ , n=10)

| 项目<br>组别 | 剂量<br>mg/kg | 5min 内受<br>电击次数 (n) | 24h 后                |                   |
|----------|-------------|---------------------|----------------------|-------------------|
|          |             |                     | 第一次跳下平台潜<br>伏期 (s)   | 3min 内错误频率        |
| 空白组      | —           | 4.1 $\pm$ 1.7       | 81.5 $\pm$ 16.7      | 4.1 $\pm$ 1.2     |
| 姜黄素-锌组   | 50          | 1.5 $\pm$ 1.2***#   | 117.4 $\pm$ 21.4***# | 1.9 $\pm$ 0.8***  |
| 姜黄素组     | 50          | 2.8 $\pm$ 1.4       | 95.8 $\pm$ 11.5      | 2.5 $\pm$ 1.2*    |
| 正常组      | —           | 1.4 $\pm$ 1.0***#   | 120.6 $\pm$ 24.7***# | 1.5 $\pm$ 0.7***# |

与空白对照组比较，\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 与姜黄素组比较,# P<0.05,

老年性痴呆症是以大脑神经细胞死亡，神经纤维缠结，大脑神经细胞和脑血管出现老年性斑块为特征。往小鼠的海马区注射 A $\beta$ 蛋白造成大脑神经细胞和脑血管形成老年性斑块，从而形成痴呆模型。姜黄素-锌 固体分散体对老年痴呆模型小鼠脑记忆的获得、巩固均表现出明显的增强作用，提示具有抗痴呆作用，优于姜黄素固体分散体。

### 实施例 9 对动脉硬化的药理作用

一、实验样品：姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌：PVP，质量比为 1：8)，姜黄素固体分散体(姜黄素：PVP，质量比为 1：8)，制备方法同实施例 2，由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP)，进口分装，由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。实验动物：SD 系雄性大鼠，由广东省医学实验动物中心提供。

二、实验方法：选择健康 S.D.系大鼠，体重  $275\pm 20\text{g}$ ，雄性，共 30 只，随机分组，分别为空白模型组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组，每组 10 只。空白模型组大鼠灌胃给予等量 PVP 溶液，姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组大鼠分别对应给予含姜黄素、姜黄素-锌  $80\text{mg/Kg}$  体重相应制剂受试样品。按表 9 连续给受试样品 15d，第 16d 禁食 12h，给受试样品 1h 后，用 4%戊巴比妥钠  $42\text{mg/kg}$  腹腔注射麻醉，仰卧体位固定动物手术台上，进行颈动脉-颈静脉环插管手术；将大鼠气管分离，插入一短塑料管，随时将气管分泌物从套管中吸出。剖离左颈总动脉，右侧颈外静脉，取一段聚乙烯软质塑料细管(长管为  $7.3\text{cm}$ ，内径  $0.15\text{cm}$ ，管厚为  $0.03\text{cm}$ )，内放一根  $8\text{cm}$  长的医用缝合线，塑料管两端用小管将肝素钠水溶液( $50\text{U/ml}$ )充满聚乙烯管。将聚乙烯管的一端插入右侧颈外静脉，而另一端插入左颈总动脉，结扎固定。准备好后，打开血流，血流从左颈总动脉流至聚乙烯管内，返回右外侧静脉管，准确开放血流  $15\text{min}$  后，立即中断血液，迅速取出丝线，用电子分析天平称总湿重。总湿重量减去丝线重得血栓湿重。

选择健康 SD 系大鼠，体重  $275\pm 20\text{g}$ ，雄性，共 30 只，随机分组，分为空白模型组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组，每组 10 只。空白模型组大鼠灌胃给予等量 PVP 溶液，姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组大鼠分别对应给予含姜黄素、姜黄素-锌  $80\text{mg/Kg}$  体重相应制剂受试样品。按表 9 连续给受试样品 15d，第 16d 禁食 12h，给受试样品 0.5h 后，用戊巴比妥钠溶液( $30\text{mg/kg}$  体重)腹腔注射麻醉后解剖分离颈总动脉，插入聚乙烯管取血，用 3.8%枸橼酸钠作抗凝剂(抗凝剂：血体积为 1 : 9)， $800\text{rpm}$  离心  $5\text{min}$ ，吸取上层乳白色的富血小板血浆(PRP)，剩余部分再以  $3000\text{rpm}$  离心  $10\text{min}$ ，取上清液即贫血小板血浆(PPP)，用 PPP 调 PRP，使血小板记数为  $60\sim 90$  万/ $\text{mm}^3$ 。

按比浊法，为了消除不同血小板数量的影响，用同一血样的 PRP 和 PPP 作为纵生标(血小板聚集率)的零点和顶点，以 PPP 为 100%，PRP 为 0%，这样的相对测量就排除了血小板数量的影响。每支比浊管加入  $20\mu\text{l}$  PRP，用  $20\mu\text{l}$  诱导剂( $4\text{mM}$  AA，或  $0.2\text{M/L}$  pH 7.4 磷酸缓冲液配制  $3.0\mu\text{M}$  ADP)，诱导血小板聚集， $10\text{min}$  内测定血小板聚集率。

表7 对大鼠血栓形成的抑制作用 ( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 项目<br>组别 | 剂量<br>(mg/kg) | 血栓湿重<br>(mg)   | 血栓抑制率<br>(%) |
|----------|---------------|----------------|--------------|
| 空白对照组    | —             | 102.4±12.5     | —            |
| 姜黄素-锌组   | 80            | 58.7±7.9***### | 42.7         |
| 姜黄素组     | 80            | 80.4±8.5***    | 21.5         |

与空白对照组比: \*\*\*p<0.001; 与姜黄素组比较, ###P<0.001

表8 对大鼠血小板聚集率的影响 ( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 项目<br>组别    | 剂量<br>mg/kg | 经 AA 诱导<br>血小板聚集率 (%) | 经 ADP 诱导<br>血小板聚集率 (%) |
|-------------|-------------|-----------------------|------------------------|
| 空白对照组       | —           | 85.4±6.3              | 82.5±8.3               |
| 姜黄素-锌 PVP 组 | 80          | 49.8±7.6***###        | 46.1±7.2***##          |
| 姜黄素组        | 80          | 60.5±6.7***           | 62.8±8.3***            |

与空白对照组相比: \*\*\*p<0.001; 与姜黄素组比较, ## P<0.01, ###P<0.001

由大鼠血栓形成及血小板聚集实验结果可知, 姜黄素-锌固体分散体具有明显的抗血栓形成作用及血小板聚集作用, 提示其具有抗动脉硬化作用, 优于姜黄素固体分散体。

**实施例 10 对大鼠脂代谢紊乱治疗性给药模型的药理作用**

一、实验样品: 姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。

二、实验动物: SD 系雄性大鼠, 由广东省医学实验动物中心提供。

选择健康 S.D.系大白鼠, 雄性, 200±20g, 在实验环境下给普通饲料喂养, 观察 6d, 无发现异常。然后剪尾取血, 分离血清, 测定其各项血脂指标, 淘汰异常血脂指标的动物, 选取血脂指标正常者, 共 50 只, 供给食物和饮水, 这批大鼠每天上午定时灌服高脂食物(80%猪油+4%胆酸钠+4%胆固醇+12%蛋黄粉)20ml/kg 体重, 连续灌服 30d。第 31d 禁食 12h, 剪尾取血, 分离血清, 测定甘油三酯 TC 含量, 挑出高于 600mg/dl 的大鼠 30 只, 随机分为 3 组, 即高脂对

照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组。高脂对照组大鼠分别灌胃给予等量 PVP 溶液，姜黄素组、姜黄素-锌 固体分散体组大鼠分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 50mg/Kg 体重相应制剂受试样品。连续给受试样品 25d，第 26d 禁食 12h，将大鼠取血测定各项血脂指标。

表 9 对大鼠脂代谢紊乱治疗性给药血脂指标的影响 (n=10,  $\bar{x} \pm SD$ )

| 项目<br>组别 | 剂量<br>mg/Kg | 甘油三脂 (TG)<br>(mg/dl) | 总胆固醇 (TC)<br>(mg/dl) | 高密度脂蛋白<br>醇 (HDL-C) (mg, |
|----------|-------------|----------------------|----------------------|--------------------------|
| 高脂对照组    | --          | 166.3±24.5           | 845.7±80.6           | 30.4±8.2                 |
| 姜黄素-锌组   | 50          | 83.4±12.7***###      | 384.2±57.2***###     | 72.3±7.4***##            |
| 姜黄素组     | 50          | 134.2±19.1**         | 542.7±68.9***        | 59.2±6.3**               |

与高脂对照组相比： \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001；与姜黄素组比较， ##  
P<0.01, ###P<0.001

由大鼠脂代谢紊乱预防性给药及治疗性给药模型实验结果表明：与模型组相比，姜黄素-锌 固体分散体能够对高血脂症、高胆固醇症具有明显的治疗作用，优于姜黄素固体分散体。

#### 实施例 11 对糖尿病模型的药理作用

一、实验样品：姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌：PVP，质量比为 1：8)，姜黄素固体分散体(姜黄素：PVP，质量比为 1：8)，制备方法同实施例 2，由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP)，进口分装，由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。实验试剂：四氧嘧啶(Alloxan)，由 Sigma Chemical Co 生产。

二、实验动物：NIH 系小鼠，由广东省医学实验动物中心提供；

三、方法与结果：选择健康 NIH 系小鼠，雄性，18~22g，50 只，随机选择 10 只小鼠作为正常对照组，另外 40 只禁食 12h 后，腹腔注射四氧嘧啶 250mg/Kg 体重，6h 后灌服 2.5g/Kg 的葡萄糖液，使小鼠安全渡过低血糖相，随后小鼠提供食物和饮水，36h 后再禁食 12h，从小鼠眼眶静脉取血，测定腹腔注射四氧嘧啶小鼠的血糖值，选择血糖值大于 200mg/dl 的小鼠 30 只，随机分成 3 组，高血糖模型组、姜黄素组、姜黄素-锌 固体分散体组，每组 10 只。正常对照组、高血糖模型组小鼠分别灌胃给予等量 PVP 溶液，姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组小鼠分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 40mg/Kg 体重相应制剂受

试样品。连续给受试样品 12 d。末次给受试样品前禁食 12h，小鼠给受试样品后 1h 眼眶静脉取血，采用血糖测定试剂盒测定血糖含量。

表 10 对四氧嘧啶所致小鼠糖尿病模型的药理作用 ( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 组别     | 剂量 (mg/Kg 体重) | 血糖值 (mM/L)         | 降糖率 (%) |
|--------|---------------|--------------------|---------|
| 正常对照组  | —             | 6.41 ± 1.20***     | —       |
| 高血糖对照组 | —             | 29.31 ± 5.41       | —       |
| 姜黄素-锌组 | 40            | 21.45 ± 1.37***### | 26.8    |
| 姜黄素组   | 40            | 25.48 ± 1.36*      | 13.6    |

与高血糖对照组相比: \*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001 与姜黄素组比较,## P<0.01

由四氧嘧啶所致小鼠糖尿病模型所致小鼠糖尿病模型实验结果可知,与模型组相比,姜黄素-锌 固体分散体具有明显的降血糖作用,优于姜黄素固体分散体。

## 实施例 12 对乙肝病毒的药理作用

一、实验样品:姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌:PVP,质量比为 1:8),姜黄素固体分散体(姜黄素:PVP,质量比为 1:8),制备方法同实施例 2,由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP),进口分装,由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。实验动物:新西兰兔,由中山医科大学实验动物中心提供,自由饮水,普通兔饲料喂养。

实验试剂:HBsAg 标准品,由中国药品生物制品检定所提供, HBeAg 酶联诊断试剂盒,上海实业科华生物工程有限分司生产。HbsAg 强阳性血清,由广州中医药大学第一附属医院检验科提供,为 20 份高效价 HBsAg 强阳性血清 (HBsAg、HBeAg、抗-HBc、HBVDNA 均为阳性)混合而成,置-20℃冰箱保存备用。

### 二、方法与结果:

含药血清的制备:选取 24 只体重为  $2.0 \pm 0.2\text{kg}$  的新西兰兔,随机分成空白模型组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组,每组 8 只,雌雄各半。空白模型组新西兰兔分别灌胃给予等量 PVP 溶液,姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组新西兰兔分别对应给予含姜黄素或姜黄素- 锌 200mg/Kg 体重相应制剂受试样品。每天 1 次,连续 8 天。于最后一次给药后 1h,心脏采血,

无菌分离血清，部分血清经 56℃ 30min 灭活，部分不灭活，用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤除菌，置-20℃冰箱保存备用。

HBsAg 阳性血清中 HBsAg 含量的标定：将 HBsAg 强阳性血清用含 20%小牛血清的生理盐水 1:2、1:4、1:8、1:16.....1:16384 的倍比稀释，随后用 ELISA 法检测各样品和 1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L HBsAg 标准品的 P/N 值，重复做 3 次，每次均做双份平行实验。最后根据 HBsAg 浓度--P/N 值标准曲线求出 HBsAg 强阳性血清中的 HBsAg 浓度，置-20℃冰箱保存备用。

空白血清灭活与否对 HBeAg 的影响：取灭活空白兔血清、未灭活空白兔血清、含 20%小牛血清的生理盐水各 200μl 分别与 50 μl 500 μg/L HBsAg 阳性血清在 37℃下作用 4h，每个样品均做 10 孔，然后用 HBeAg 酶联诊断试剂盒检测作用后 HBeAg 的 P/N 值，并进行 t 检验分析。

含药血清、空白兔血清各 200 μl 分别与 50 μl 500 μg/L HBsAg 阳性血清在 37℃下作用 4h，每个样品均做 10 孔，然后用 HBeAg 酶联诊断试剂盒检测作用后 HBeAg 的 P/N 值，并进行 t 检验分析。

空白血清灭活与否对 HbeAg 的影响： 灭活空白兔血清、未灭活空白兔血清分别与 500 μg/L HBsAg 阳性血清在 37℃下作用 4h，检测作用后 HBeAg 的 P/N 值，结果未灭活空白兔血清对 HBeAg 具有抑制作用 (P<0.05)，且未灭活空白兔血清和灭活空白兔血清对 HBeAg 的影响有显著性差异 (P<0.05)，故在以下的实验中将家兔的空白血清和含药血清均进行 56℃ 30min 灭活处理。

表 11 空白血清灭活与否对 HBsAg 的影响 (  $\bar{x} \pm SD$  )

| 组别             | 孔数 | P/N 值         |
|----------------|----|---------------|
| 含 20%小牛血清的生理盐水 | 10 | 5.02 ± 0.54   |
| 灭活空白兔血清        | 10 | 4.96 ± 0.41△  |
| 未灭活空白兔血清       | 10 | 4.27 ± 0.39** |

注：与含 20%小牛血清的生理盐水比较 △P<0.05；与灭活空白兔血清比较 \*\*P<0.001。

表 12 含药血清对 HBeAg 的抑制作用 (  $\bar{X} \pm SD$  )

| 组别          | 孔数 | P/N 值             |
|-------------|----|-------------------|
| 灭活空白兔血清     | 10 | 5.82 ± 0.44       |
| 姜黄素-锌 PVP 组 | 10 | 3.57± 0.43***#### |
| 姜黄素组        | 10 | 4.56 ± 0.41***    |

注：与灭活空白兔血清比较 $\Delta P > 0.05$ ,  $***P < 0.001$ ；与姜黄素组比较, #  $P < 0.05$ ,  
 $^{##} P < 0.01$ ,  $^{###} P < 0.001$

与空白血清相比, 姜黄素-锌 固体分散体对乙肝病毒具有明显的抑制作用, 优于姜黄素固体分散体。

### 实施例 13 对乙酸烧灼诱导大鼠胃溃疡模型作用

实验样品姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8: ), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。

实验动物: SD 系雄性大鼠, 由广东省医学实验动物中心提供。

选择健康 SD 大鼠 30 只, 雌雄各半, 体重  $200 \pm 10g$ , 实验前大鼠禁食不禁水 24h, 用  $30mg/kg$  戊巴比妥钠麻醉, 无菌条件下剑突下 2cm 处打开腹腔, 将内径 5mm、长 30mm 的玻璃管垂直放于胃体部浆膜面上, 向管内加入乙酸 0.02mL, 1min 后用棉签蘸出乙酸, 用无菌生理盐水冲洗两次, 缝合切口。随机分成 3 组, 每组 10 只 (雌雄各半), 即: 随机分成空白模型组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组, 每组 10 只, 雌雄各半。空白对照组大鼠灌胃给予 PVP500mg/Kg 体重 (排除敷料对胃黏膜的影响), 姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组大鼠分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌  $200mg/Kg$  体重相应制剂受试样品。连续给药 14d, 第 15d 禁食不禁水 24h 后, 眼眶静脉丛取血 3mL, 其中 2 mL 注入含 10%EDTA- $Na_2$   $30\mu L$  和抑肽酶的试管中, 混匀,  $4^\circ C$ , 3000rpm 离心 10min, 分离血浆,  $-20^\circ C$  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,  $-20^\circ C$  保存待测。血清 NO 和血浆 ET 测定按说明书操作。

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 5mL, 固定 30min 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 1-1 计算溃疡抑制率。

$$\text{溃疡愈合百分率 (\%)} = \frac{\text{对照组溃疡直径均值} - \text{实验组溃疡直径均值}}{\text{对照组溃疡直径均值}} \times 100\%$$

1-1

与模型组相比, 姜黄素-锌 固体分散体对该模型胃溃疡具有显著的抑制作用, 优于姜黄素固体分散体。

表 13 对乙酸烧灼性胃溃疡的作用 ( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 组别            | 剂量(mg/kg) | 溃疡指数              | 愈合率 (%) |
|---------------|-----------|-------------------|---------|
| 模型组(给予辅料 PVP) | 500       | 9.76 ± 0.69       | --      |
| 姜黄素-锌组        | 50        | 3.72 ± 0.35***### | 61.9    |
| 姜黄素组          | 50        | 5.26 ± 0.10***    | 46.1    |

与模型组比较, \*\*\*p < 0.001; 与姜黄素组比较, # P<0.05, ###P<0.001

对血清 NO 与血浆 ET 含量的影响:

与模型组相比, 姜黄素-锌固体分散体具有升高血清 NO 水平作用, 降低血浆 ET 水平作用, 优于姜黄素固体分散体。

表 14 对各组血清 NO 和血浆 ET 含量的影响 ( $\bar{x} \pm SD$ , n=10)

| 组别            | 剂量(mg/kg) | 血清 NO( $\mu$ mol/mL) | 血浆 ET (pg/mL)     |
|---------------|-----------|----------------------|-------------------|
| 模型组(给予辅料 PVP) | 500       | 31.4 ± 6.5           | 213.1 ± 25.3      |
| 姜黄素-锌组        | 50        | 52.5 ± 11.4***#      | 125.7 ± 14.2***## |
| 姜黄素组          | 50        | 40.4 ± 7.6*          | 156.7 ± 20.9***   |

与模型组比较, \*\*\*p < 0.001; 与姜黄素组比较, ###P<0.001

#### 实施例 14 对大鼠棉球肉芽肿的炎症实验

实验样品: 姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。

实验动物: SD 系雄性大鼠, 由广东省医学实验动物中心提供

选取体重健康的雄性 SD 大鼠 30 只, 体重 180-200g, 随机分成 3 组, 分别为病理模型组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组, 每组 10 只大鼠。大鼠在乙醚浅麻醉下腹部去毛并用 75%酒精和碘酒消毒。在腹部正中做一个切口, 将两个灭菌棉球(每个棉球重 20mg, 高压灭菌, 各加入氨苄青霉素每个 1mg/0.1ml, 50℃烘箱烤干)分别植入大鼠两侧腋窝皮下(或两侧腹股沟皮下), 将切口缝合后用 75%酒精和碘酒消毒。于手术后当天开始灌胃给药, 空白对照组

大鼠灌胃给予等量 PVP 溶液, 姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 60mg/Kg 体重相应制剂受试样品。每天一次, 连续 14d。15d 颈椎脱臼处死, 剥离并取出棉球肉芽组织, 然后在 60℃烘箱内烘 12h 后称干重, 相比各组肉芽肿胀重量。实验结果进行统计学处理并比较组间差异。

#### 大鼠棉球肉芽肿实验

植入棉球后, 大鼠伤口愈合良好。连续给药 14d 后, 空白对照组大鼠腋下肉芽肿非常明显。与模型组相比, 姜黄素-锌固体分散体能够明显抑制棉球肉芽肿的增生, 具有抗炎作用, 优于姜黄素固体分散体。

表 15 对大鼠棉球肉芽肿的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 剂量<br>( $\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ ) | 肉芽肿重量<br>(mg)    | 抑制率<br>(%) |
|--------|--|------------------|------------|
| 模型组    | --   | 125.4 ± 29.5     | —          |
| 姜黄素-锌组 | 50   | 66.8 ± 7.2***### | 46.7       |
| 姜黄素组   | 50   | 85.4 ± 9.6***    | 31.9       |

与空白对照组相比, \*\*\*P<0.001; 与姜黄素组比较, ###P<0.001

#### 实施例 15 抗肿瘤实验

实验样品: 姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。实验动物: NIH 纯系小白鼠, 由广东省医学实验动物中心提供, 艾氏腹水瘤肿瘤、移植性肉瘤(S180)和移植性肝癌(HepA) 细胞, 由广州中山大学肿瘤研究中心提供。

#### 对小鼠移植性肉瘤 S180 的作用

取小鼠 30 只, 于小鼠右腋下皮下接种肉瘤 S180 细胞悬液( $1.0 \times 10^7$  个/L)0.2ml, 接种次日随机分为 3 组, 分别为空白对照组、姜黄素组、姜黄素-锌固体分散体组, 每组 10 只小鼠, 空白对照组小鼠灌胃给予等量胶囊, 姜黄素组、姜黄素-锌固体分散体组分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 60mg/Kg 体重相应制剂受试样品。每天一次, 连续 10d, 停药次日处死动物, 称量体重、胸腺及脾脏重

量,按下式计算抑瘤率:

$$\text{抑瘤率}(\%) = (1 - \text{给药组平均瘤重} / \text{对照组平均瘤重}) \times 100\%$$

对 HepA 小鼠生存期的影响:

取小鼠 30 只,于小鼠腹腔内接种 HepA 细胞悬液( $1.0 \times 10^7$  个/ml)0.2ml, 接种次日随机分为 3 组,分别为空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组,每组 10 只小鼠,空白对照组小鼠灌胃给予等量 PVP 溶液,姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 60mg/Kg 体重相应制剂受试样品。每天一次,连续 10d,记录自然死亡的天数,按下式计算其生命延长率:

$$\text{生命延长率} = (\text{实验组平均生存天数} / \text{对照组平均生存天数} - 1) \times 100\%$$

对小鼠艾氏腹水瘤的作用:

取小鼠 30 只,于小鼠腹腔接种艾氏腹水瘤( $1.0 \times 10^7$  个/L)0.2ml, 接种次日随机分为 3 组,分别为空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组,每组 10 只小鼠,空白对照组小鼠灌胃给予等量 PVP 溶液,姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组分别对应给予含姜黄素或姜黄素-锌 60mg/Kg 体重相应制剂受试样品。每天一次,连续 10d,连续 10d,记录自然死亡的天数,按下式计算其生命延长率:

$$\text{生命延长率} = (\text{实验组平均生存天数} / \text{对照组平均生存天数} - 1) \times 100\%。 \text{抑瘤率}(\%) = (1 - \text{给药组平均瘤重} / \text{对照组平均瘤重}) \times 100\%。$$

表 16 对小鼠移植性肉瘤 S180 的抑制作用( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别     | 剂量<br>mg/Kg | 瘤重<br>(g)          | 抑瘤率<br>(%) | 胸腺指数<br>(mg/10g 体重) | 脾脏指数<br>(mg/10g 体重) |
|--------|-------------|--------------------|------------|---------------------|---------------------|
| 空白对照组  | --          | 1.50±0.46          | —          | 21.7±3.4            | 72.5±8.2            |
| 姜黄素-锌组 | 60          | 0.62±0.32***<br>## | 52.0       | 30.2±5.72***###     | 89.6±9.4**##        |
| 姜黄素组   | 60          | 0.84±0.40**        | 44.0       | 25.5±3.4**          | 76.4±5.9**          |

与空白对照组比较, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001; 与姜黄素组比较,# P<0.05, ## P<0.01,###P<0.001

表 17 对 HepA 小鼠生存期的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 组别     | 剂量<br>/mg/ Kg | 生存天数<br>(天)    | 生命延长率<br>(%) |
|--------|---------------|----------------|--------------|
| 空白对照组  | --            | 13.5±2.7       | —            |
| 姜黄素-锌组 | 60            | 20.5±8.5***### | 34.1         |
| 姜黄素组   | 60            | 16.2±3.8       | 20.0         |

与空白对照组比较, \* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001 与姜黄素组比较,###P<0.001

表 18 对艾氏腹水瘤小鼠生存期的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 组别     | 剂量<br>/mg/ Kg | 生存天数<br>(天) | 生命延长率<br>(%) |
|--------|---------------|-------------|--------------|
| 空白对照组  | --            | 14.2±2.5    | —            |
| 姜黄素-锌组 | 60            | 19.4±5.2*## | 36.6         |
| 姜黄素组   | 60            | 17.9±5.2    | 26.0         |

与空白对照组比较, \* P<0.01;与姜黄素组比较, ## P<0.01

与空白对照组相比, 姜黄素-锌固体分散体对 S180 肉瘤有显著的抑制作用, 对艾氏腹水瘤小鼠、HepA 小鼠生存期延长, 优于姜黄素固体分散体。

**实施例 16 对四氯化碳所致大鼠肝损伤的保护作用**

实验样品: 姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 6), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 6), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。实验动物: SD 纯系大白鼠, 由广东省医学实验动物中心提供;

取健康 SD 大鼠 40 只, 雄性, 体重 230±25g, 随机分成 4 组, 分别为正常对照组、空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组, 每组 10 只大鼠, 空白对照组、正常对照组大鼠灌胃给予等量 PVP 溶液, 姜黄素组、姜黄素- 锌 固体分散体组分别对应给予含姜黄素或姜黄素- 锌 60mg/Kg 体重相应制剂受试样品。从开始实验之日起, 正常对照组大鼠腹腔注射花生油 5ml/kg, 其余五组大鼠腹腔注射 25%CCl<sub>4</sub>-花生油 5ml/kg, 连续给药 10 天, 第 11 天禁食,

不禁水 24h, 给药 1h 后取血离心 3000rpm×10min, 测定血清中 ALT、AST、Alb 含量。

与空白对照组比较, 姜黄素-锌固体分散体具有抗肝损伤作用, 抑制血清中 ALT 和 AST 的含量, 同时显著的提高血清中 Alb 的含量, 优于姜黄素固体分散体。

表 19 对大鼠血清 ALT、AST、Alb 的影响 (mean±SD, n=10)

| 组别     | 剂量 mg/kg | ALT (U/L)                    | AST (U/L)                     | Alb (g/L)                   |
|--------|----------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 正常对照组  | --       | 38.44±9.36 <sup>***</sup>    | 145.63±15.25 <sup>***</sup>   | 51.25±4.92 <sup>***</sup>   |
| 空白对照组  | --       | 214.77±19.47                 | 253.27±26.41                  | 32.67±5.12                  |
| 姜黄素-锌组 | 60       | 94.52±25.29 <sup>***##</sup> | 172.30±21.80 <sup>***##</sup> | 42.15±4.22 <sup>***##</sup> |
| 姜黄素组   | 60       | 129.82±28.26 <sup>***</sup>  | 195.62±27.92 <sup>**</sup>    | 36.60±4.38 <sup>***</sup>   |

与空白对照组比较, <sup>\*\*\*</sup> P<0.001; 与姜黄素组比较, <sup>##</sup> P<0.01

实施例17 对强迫小鼠游泳不动时间的影响

实验样品: 姜黄素-锌固体分散体(姜黄素-锌: PVP, 质量比为 1: 8), 姜黄素固体分散体(姜黄素: PVP, 质量比为 1: 8), 制备方法同实施例 2, 由中山大学生命科学学院中药与海洋药物实验室提供。聚乙烯吡咯烷酮 PVP k30(简称 PVP), 进口分装, 由广州化学试剂批发部提供。使用时样品溶于水中分别用灌胃给药。实验动物: 昆明纯系小白鼠, 由广东省医学实验动物中心提供;

雄性昆明小鼠 30 只, 体重 18~25g, 随机分成 3 组, 每组 10 只, 分别为正常对照组、空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组。空白对照组给予等量 PVP 溶液, 每日上午准时灌胃给药, 1 次/d, 连续 8d。小鼠末次灌胃给药后 1h, 将小鼠置于水深 10cm 的玻璃皿(高 30cm, 直径 18cm), 小鼠游泳 2min 后, 立即开始观察, 观察持续 4min, 累计此 4min 内小鼠在水中停止挣扎, 或呈漂浮状态, 仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面的持续时间(不动时间)。比较给药组和对照组在后 4min 内的累计不动时间。

表 20 对小鼠强迫游泳不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm S.D.$ , n=10)

| 组别     | 剂量(mg/kg) | 不动时间(s)                     | 改善率(%) |
|--------|-----------|-----------------------------|--------|
| 空白对照组  | --        | 120.12±28.43                | —      |
| 姜黄素-锌组 | 50        | 70.51±20.24 <sup>***#</sup> | 41.02  |
| 姜黄素组   | 50        | 92.43±23.04 <sup>*</sup>    | 23.05  |

与空白对照组比较, <sup>\*</sup> P<0.01, <sup>\*\*\*</sup>P<0.001; 与姜黄素组比较, <sup>#</sup> P<0.05

对小鼠悬尾不动时间的影响

雄性昆明小鼠，体重18~25g，共30只，随机分成3组，每组10只，分别为空白对照组、姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌 固体分散体组。空白对照组给予等量PVP溶液，每日上午准时灌胃给药，1次/d，连续8d。小鼠末次灌胃1h后将小鼠尾端2cm处固定于水平面上，使其呈倒挂状态，头部离台面30cm，四周以板隔离动物视线，首先让小鼠适应2min，记录小鼠在后6min内的不动时间。

表21 对小鼠悬尾不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm S.D.$ , n=10)

| 组别     | 剂量(mg/kg) | 不动时间(s)         | 改善率(%) |
|--------|-----------|-----------------|--------|
| 空白对照组  | --        | 141.75±31.24    | —      |
| 姜黄素-锌组 | 50        | 74.26±23.41***# | 47.61  |
| 姜黄素组   | 50        | 105.92±29.28*   | 25.28  |

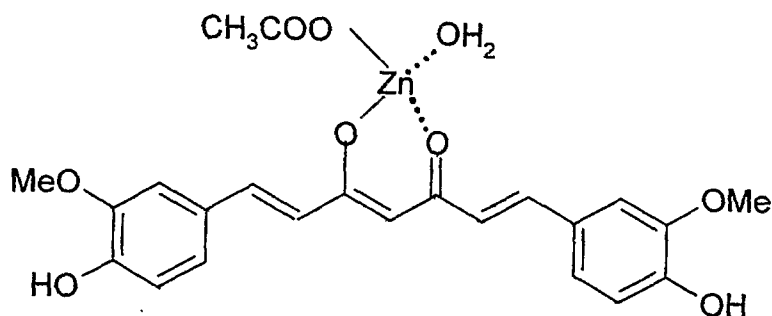
与空白对照组比较, \* P<0.01 , \*\*\* P<0.001; 与姜黄素组比较, # P<0.05

小鼠在强迫游泳模型中出现的不动状态也反映了动物的绝望行为。姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组能显著缩短小鼠强迫游泳不动时间，与空白对照组, 具有显著性差异，提示姜黄素固体分散体、姜黄素-锌固体分散体具有抗抑郁的作用，而姜黄素-锌固体分散体的效果优于姜黄素固体分散体。

小鼠在悬尾模型中出现的不动状态反映了动物的绝望行为。小鼠在强迫游泳模型中出现的不动状态也反映了动物的绝望行为。姜黄素固体分散体组、姜黄素-锌固体分散体组能显著缩短小鼠强迫游泳不动时间，与空白对照组, 具有显著性差异，提示姜黄素固体分散体、姜黄素-锌固体分散体具有抗抑郁的作用，而姜黄素-锌固体分散体的效果优于姜黄素固体分散体。

## 权利要求书

1.一种姜黄素-锌化合物，其结构式如（I）所示：



(I)

Me:代表 CH<sub>3</sub>。

2.权利要求 1 所述姜黄素-锌化合物的制备方法，其特征在于将姜黄素和乙酸锌按摩尔比 1: 1~1: 5 分别溶于有机溶剂，于氮气保护或在无氧 45~70℃ 环境下，将含乙酸锌的有机溶液滴加到含姜黄素的有机溶液中，搅拌回流 3~5 小时，冷却过滤，收集沉淀物，分别用 5~15℃ 无水乙醇洗涤沉淀物 4~6 次，沉淀物在真空干燥，得到姜黄素-锌化合物。

3.如权利要求 2 所述的制备方法，其特征在于所述有机溶剂为乙醇、丙醇等溶解乙酸锌的溶液。

4.一种姜黄素-锌化合物固体分散体，其特征在于由姜黄素-锌化合物、聚乙烯吡咯烷酮组成，姜黄素-锌化合物和聚乙烯吡咯烷酮的质量比为 1: 1~1: 28。

5.如权利要求 4 所述的姜黄素-锌化合物固体分散体，其特征在于所述姜黄素-锌化合物和聚乙烯吡咯烷酮的质量比为 1: 3~1: 18。

6.如权利要求 4 所述的姜黄素-锌化合物固体分散体，其特征在于所述姜黄素-锌化合物和聚乙烯吡咯烷酮的质量比为 1: 5~1: 16。

7.权利要求 4 所述姜黄素-锌化合物固体分散体的制备方法，其特征在于包括如下步骤：将姜黄素-锌化合物、PVP 按比例混合溶解于无水乙醇中，通氮气保护，经高压均质机均质，过滤，滤液喷雾干燥得姜黄素-锌化合物固体分散体。

8.权利要求 4 所述姜黄素-锌化合物固体分散体在制备用于治疗免疫功能低下、胃溃疡、老年性痴呆症、肾衰、高血脂症、高胆固醇症、动脉硬化、糖尿病、脑缺血、记忆衰退、心肌缺血、炎症、病毒感染、肿瘤、自由基损伤、肝损伤、抑郁的药物或保健品中的应用。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/001086

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07F3/-,C07C49/-,A61K31/-,A61P25/-,A61P1/-,A61P37/-,A61P3/-,A61P9/-,A61P29/-,A61K9/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, PAJ, CPRS, CNKI, CA: +curcumin diketone zinc metal copper iron chelation chelator  
acetate polyvinylpyrrolidone PVP solid dispersion

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A         | Baum L, Ng A. Curcumin interaction with copper and iron suggests one possible mechanism of action in Alzheimer's disease animal models JOURNAL OF ALZHEIMER'S DISEASE 2004, vol.6, No.4, pages 367-377, ISSN: 1387-2877 | 1-8                   |
| A         | CN1709228A (UNIV. ZHONGSHAN) 21 Dec. 2005 (21.12.2005)<br>example 1   | 4-8                   |

Further documents are listed in the continuation of Box C.       See patent family annex.

|  |   |
|--|---|
| <p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> | <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p> |
|--|---|

Date of the actual completion of the international search

**18 Sep. 2008 (18.09.2008)**

Date of mailing of the international search report

**18 Sep. 2008 (18.09.2008)**

Name and mailing address of the ISA/CN  
The State Intellectual Property Office, the P.R.China  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China  
100088  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer  
  
**WANG Qingeng**  
Telephone No. (86-10)62414001

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2008/001086

| Patent Documents referred<br>in the Report | Publication Date | Patent Family | Publication Date |
|--|------------------|---------------|------------------|
| CN1709228 A                                | 21.12.2005       | CN100340238C  | 03.10.2007       |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/001086

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07F3/06 (2006.01) i  
C07C49/245 (2006.01) i  
C07C49/215 (2006.01) i  
C07C49/213 (2006.01) i  
A61K31/122 (2006.01) i  
A61K31/315 (2006.01) i  
A61P25/28 (2006.01) i  
A61P1/04 (2006.01) i  
A61P37/00 (2006.01) i  
A61P3/06 (2006.01) i  
A61P3/10 (2006.01) i  
A61P9/00 (2006.01) i  
A61P29/00 (2006.01) i  
A61K9/00 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号  
PCT/CN2008/001086

A. 主题的分类

见附加页

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07F3/-,C07C49/-,A61K31/-,A61P25/-,A61P1/-,A61P37/-,A61P3/-,A61P9/-,A61P29/-,A61K9/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, PAJ, CPRS, CNKI, CA: +curcumin diketone zinc metal copper iron chelation chelator acetate polyvinylpyrrolidone PVP solid dispersion 姜黄素 锌 铜 铁 配合物 络合

C. 相关文件

| 类型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落   | 相关的权利要求 |
|-----|---|---------|
| A   | Baum L, Ng A. Curcumin interaction with copper and iron suggests one possible mechanism of action in Alzheimer's disease animal models<br>JOURNAL OF ALZHEIMER'S DISEASE 2004,6 卷,第 4 期,第 367-377 页.ISSN: 1387-2877 | 1-8     |
| A   | CN1709228A(UNIV. ZHONGSHAN) 21.12 月 2005(21.12.2005)<br>实施例 1   | 4-8     |

其余文件在 C 栏的续页中列出。

见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期  
18.9 月 2008 (18.09.2008)

国际检索报告邮寄日期  
18.9 月 2008 (18.09.2008)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)  
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088  
传真号: (86-10)62019451

受权官员  
王勤耕  
电话号码: (86-10) 62414001

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2008/001086

| 检索报告中引用的<br>专利文件 | 公布日期       | 同族专利         | 公布日期       |
|------------------|------------|--------------|------------|
| CN1709228 A      | 21.12.2005 | CN100340238C | 03.10.2007 |

主题的分类

C07F3/06 (2006.01) i  
C07C49/245 (2006.01) i  
C07C49/215 (2006.01) i  
C07C49/213 (2006.01) i  
A61K31/122 (2006.01) i  
A61K31/315 (2006.01) i  
A61P25/28 (2006.01) i  
A61P1/04 (2006.01) i  
A61P37/00 (2006.01) i  
A61P3/06 (2006.01) i  
A61P3/10 (2006.01) i  
A61P9/00 (2006.01) i  
A61P29/00 (2006.01) i  
A61K9/00 (2006.01) i