

PLA- α -细辛脑纳米粒的制备、表征及其对鼻黏膜的毒性

陆瑾^{1,2}, 展冠军^{2*}, 郭立玮³, 付廷明³, 朱国龙²

(1. 南京市大厂医院, 南京 210048; 2. 东南大学附属中大医院, 南京 210009;
3. 南京中医药大学, 南京 210023)

[摘要] 目的: 表征聚乳酸- α -细辛脑(PLA- α -细辛脑)纳米粒, 评价其鼻腔给药后鼻黏膜毒性, 为其通过鼻腔给药方式用于体内的研究提供基础。方法: 采用有机溶剂挥发法将 α -细辛脑制备成PLA- α -细辛脑纳米粒, 通过粒径分布、载药量和包封率评价纳米粒的工艺条件; 红外光谱, 差示扫描量热分析, X射线衍射分析及体外溶出试验分析药物在纳米粒中的分布状态; 鼻纤毛毒性及鼻黏膜病理切片研究PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液鼻腔给药后的鼻黏膜毒性。结果: α -细辛脑纳米粒平均粒径265.4 nm, 多分散系数(PDI)0.038, 载药量12.40%, 包封率55.86%, α -细辛脑以分子状态分散或非晶型状态存在于PLA载体中, 体外释放包括速释和缓释, 呈双相动态, PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液鼻腔给药后对鼻黏膜组织无明显的毒性作用。结论: 有机溶剂挥发法制备的PLA- α -细辛脑纳米粒表征与鼻黏膜毒性试验结果表明该制剂适合于鼻腔给药。

[关键词] α -细辛脑; 纳米粒; 鼻腔给药; 鼻黏膜毒性; 溶剂挥发法; 包封率; 聚乳酸

[中图分类号] R283.6; R284.1; R945; R285.5; S859.82 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0022-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100022

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0927.010.html>

[网络出版时间] 2017-03-08 9:27

Preparation, Characterization of PLA- α -asarone Nanoparticles and Its Toxicity to Nasal Mucosa

LU Jin^{1,2}, ZHAN Guan-jun^{2*}, GUO Li-wei³, FU Ting-ming³, ZHU Guo-long²

(1. Nanjing Dachang Hospital, Nanjing 210048, China;

2. Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, China;

3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare and characterize polylactic acid (PLA) - α -asarone nanoparticles, then to evaluate the its toxicity to nasal mucosa after intranasal administration. **Method:** α -Asarone was prepared to PLA- α -asarone nanoparticles by organic solvent evaporation method. The average particle size, drug loading and encapsulation efficiency of α -asarone nanoparticles were used to evaluate process conditions of the nanoparticles. Infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry analysis, X-ray diffraction and *in vitro* dissolution test were researched to analyze the state of α -asarone in the nanoparticles. Nasal mucosa and mucosa cilia pathological were used to evaluate the nasal mucosal toxicity after nasal administration of PLA- α -asarone nanoparticles suspension. **Result:** The average particle size of PLA- α -asarone nanoparticles was 265.4 nm, polydispersity index (PDI) was 0.038, drug loading and encapsulation efficiency were 12.40% and 55.86%, respectively. α -Asarone existed in the nanoparticles in the form of molecular or amorphous state. *In vitro* release of

[收稿日期] 20161213(004)

[基金项目] 南京市药学会项目(2016YX009)

[第一作者] 陆瑾, 博士, 中药师, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel:025-57069037-60003, E-mail: subwoofer365@ sina. com

[通讯作者] *展冠军, 硕士, 副主任药师, 从事药物新剂型及抗菌药物的研究, Tel:025-57069037-60003, E-mail: 13776653295@ 163. com

PLA- α -asarone nanoparticles was biphasic dynamics, which included the immediate-release and sustained-release. PLA- α -asarone nanoparticles had no significant toxicity on nasal mucosa. **Conclusion:** The results of characterization and nasal mucosal toxicity on PLA- α -asarone nanoparticles prepared by organic solvent evaporation method indicate that the preparation is suitable for intranasal administration.

[**Key words**] α -asarone; nanoparticles; intranasal administration; nasal mucosal toxicity; solvent evaporation method; encapsulation efficiency; polylactic acid

石菖蒲为开窍药的典型代表,其主要活性成分之一为可透过血脑屏障的 α -细辛脑。研究表明 α -细辛脑具有多种药理活性,包括神经保护^[1]、抗氧化^[2]、抗癫痫^[3-4]、解痉^[5]及治疗呼吸系统疾病^[6]等。目前,关于其治疗脑部疾病的药理研究报道越来越多。例如通过调节一氧化氮(NO)水平治疗阿尔茨海默病^[7];通过抗氧化和抗炎^[4]、抑制海马神经元的活性及 γ -氨基丁酸(GABA)受体的表达^[8]等治疗癫痫等。目前, α -细辛脑主要通过口服给药及静脉注射来治疗疾病。由于 α -细辛脑具有较强的疏水性,临床使用的 α -细辛脑胶囊剂或片剂绝对生物利用度较低^[9],严重影响了药物疗效的发挥。本课题组前期通过将 α -细辛脑粉末直接高压粉碎的方式制备成 α -细辛脑干粉,通过鼻腔给药^[10],由于该干粉的粒径范围较宽,经研究发现该干粉有部分通过吸入到达了肺部,且药物浓度与静脉注射到达肺部的浓度相当。本实验拟通过将 α -细辛脑制备成聚乳酸- α -细辛脑(PLA- α -细辛脑)纳米粒,并对其表征、体外溶出试验及鼻黏膜毒性试验的研究,为该制剂使用鼻腔给药方式用于体内的研究提供基础资料。

1 材料

SM-1000D 型超声波细胞破碎仪(南京舜玛仪器设备有限公司),HJ-6A 型六联数显控温磁力搅拌器(江苏金运市金城国胜实验仪器厂),Allegra 64R 型高速冷冻离心机(贝克曼库尔特有限公司),I-6 型冷冻干燥机(德国 Ehrlsa 公司),AVATA360 型傅里叶红外光谱仪(美国尼高立仪器公司),XRD-6000 型智能 X 射线衍射仪和 LibrorAEL-40SM 型 1/10 万天平(日本岛津公司),Zetasizer Nano-ZS90 型粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司),DSC204 型差示扫描量热仪(Bruker 公司),1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),K850 型离子溅射仪(Emitech 公司),Quanta200 型扫描电镜(FEI 公司),E-1010 型喷金仪(日本日立公司)。

透析袋(截留相对分子质量 2 kDa,德国 Sorua 公司), α -细辛脑对照品(中国食品药品检定研究

院,批号 100298-201203,纯度 99%), α -细辛脑原料药(湖北艺康源化工有限公司,批号 130104,纯度 > 98%),聚乳酸(PLA,截留相对分子质量 10 kDa,山东医疗器械研究所),聚乙烯醇 1788(PVA 1788,上海阿拉丁试剂有限公司),钼酸(广州竞赢化工科技有限公司),苏木素染色液和伊红染色液(无锡市江原实业技贸总公司),水为重蒸水,试剂均为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 200 ~ 250 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(沪)2008-0016。大鼠饲养在 SPF 级的环境下,条件为温度 18 ~ 26 °C,相对湿度 40% ~ 70%,12 h 光照/黑暗交替,实验前自由饮水饮食。实验经南京中医药大学实验动物伦理委员会审核通过,符合实验动物伦理学要求。

2 方法与结果

2.1 PLA- α -细辛脑纳米粒的制备 前期采用响应面法优选了 PLA- α -细辛脑纳米粒的制备工艺。精密称取一定量 α -细辛脑原料药和 PLA 溶于 10 mL 的有机溶剂[二氯甲烷-丙酮(9:1)]中,配制成 PLA 和 α -细辛脑质量浓度分别为 14.76,4.89 g·L⁻¹的有机相,将有机相用注射器缓缓注入 20 mL 不断搅拌的 1% PVA 水溶液中,滴毕,继续搅拌 2 min,于超声波细胞破碎仪在 600 W 功率下超声 4 min,磁力搅拌器搅拌 >6 h,于 5 000 r·min⁻¹离心 5 min,除去沉淀,上清液以 21 000 r·min⁻¹离心 45 min,得纳米粒沉淀,该沉淀用水洗涤 2 次以除去 PVA,加适量水分散,冷冻干燥 48 h,得粉末状样品。空白纳米粒的制备方法除有机溶剂中不加入 α -细辛脑原料药外,其他步骤同上。 α -细辛脑原料药与 PLA 空白纳米粒按质量比 1:4 的比例称取,使用等量递增法的原则,制得 α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒的物理混合物。

2.2 样品的表征

2.2.1 粒径和多分散系数(PDI)的测定 取冻干 PLA- α -细辛脑纳米粒适量,均匀分散于水中,采用粒度分析仪于 25 °C 测定,结果平均粒径 265.4 nm,

PDI 0.038。一般情况下, PDI < 0.3 时表示粒径较均一, 说明该方法制得的 PLA- α -细辛脑纳米粒粒径均一。

2.2.2 载药量(DL)与包封率(EE)的测定 精密称取 PLA- α -细辛脑纳米粒 10 mg 至 10 mL 量瓶中, 加乙腈 2 mL 使溶解, 超声 2 min 以使纳米粒降解释放出药物, 加甲醇定容, 使用 HPLC 测定^[10], 计算 DL 和 EE 分别为 12.40%、55.86%。

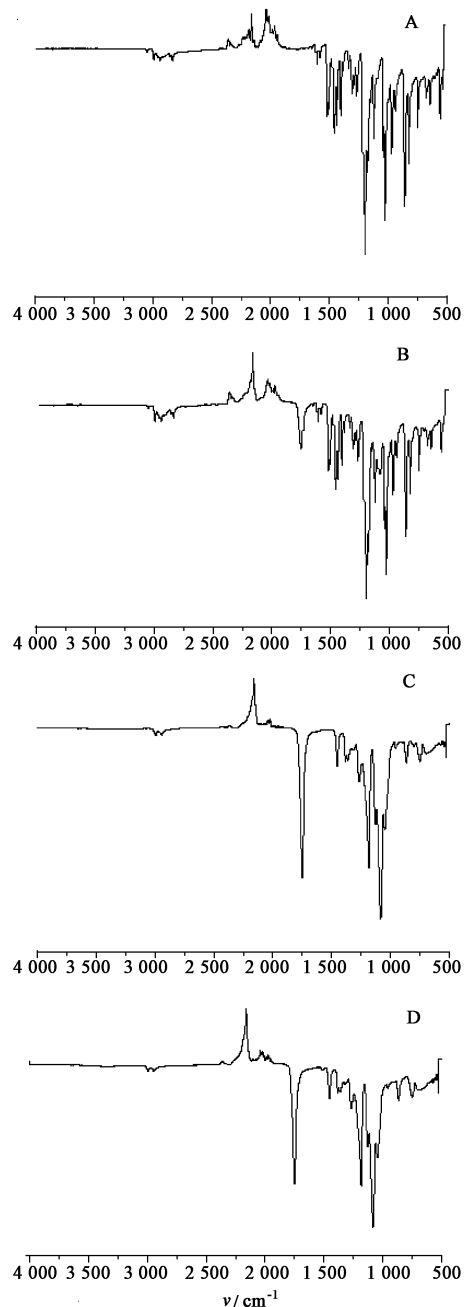
$$DL = \text{纳米粒中药物质量} / \text{纳米粒质量} \times 100\%$$

$$EE = \text{纳米粒中药物质量} / \text{投入总药量} \times 100\%$$

2.2.3 傅里叶红外光谱分析 利用傅里叶红外光谱分析仪分别记录 α -细辛脑原料药, PLA 空白纳米粒, PLA- α -细辛脑纳米粒及 α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒的物理混合物的红外光谱图, 波数范围 500 ~ 4 000 cm^{-1} , 见图 1。结果显示 α -细辛脑的主要吸收峰为 1 450 ~ 1 600 cm^{-1} 的苯环骨架振动吸收峰及 1 200 cm^{-1} 左右的醚键伸缩振动吸收峰。PLA 空白纳米粒在 1 750 cm^{-1} 处有明显的羰基吸收峰。在物理混合物的图谱中, 不仅可观察到 α -细辛脑的特征吸收峰, 在 1 750 cm^{-1} 处还可观察到强度较空白纳米粒有所减弱的羰基吸收峰。PLA- α -细辛脑纳米粒的红外图谱与空白纳米粒较为相似, 因空白 PLA 纳米粒在 1 200 cm^{-1} 左右处也有较强吸收, 对 α -细辛脑原料药的吸收峰有所干扰, 故无法判定 PLA- α -细辛脑纳米粒的红外图谱中是否存在 α -细辛脑原料药的吸收峰。

2.2.4 DSC 分析 扫描范围 30 ~ 500 $^{\circ}\text{C}$, 升温速度 10.0 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, 空白铝坩锅为参比物, 气氛为氮气。分别记录 α -细辛脑原料药, PLA 空白纳米粒, PLA- α -细辛脑纳米粒及 α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒物理混合物的差示扫描量热分析(DSC), 见图 2。DSC 是用于判定物质某些物理特征(如晶型、非晶型)的热分析方法。许多物质在冷却或加热过程中会出现晶型转变、融化、凝固、分解等理化变化, 因这些变化常伴随着体系焓的改变, 因而会有热效应的产生。DSC 通过检测流向或来自样品的热量而提供有关物质物理化学变化定性、定量的信息^[11-13]。

结果 α -细辛脑原料药的 DSC 曲线在 66.68 $^{\circ}\text{C}$ 处有一尖锐的吸热峰, 而其热重分析(TG)曲线无明显变化, 说明 α -细辛脑在此温度下融化, 证明了 α -细辛脑原料药常温下以晶体形式存在。并且其在 205.75 $^{\circ}\text{C}$ 处吸热分解。PLA 空白纳米粒的 DSC-TG 曲线显示其在 50 $^{\circ}\text{C}$ 左右有一吸热峰, 为玻璃转化温度, 在 300 ~ 350 $^{\circ}\text{C}$ 有 2 个吸热峰。在物理混合物的

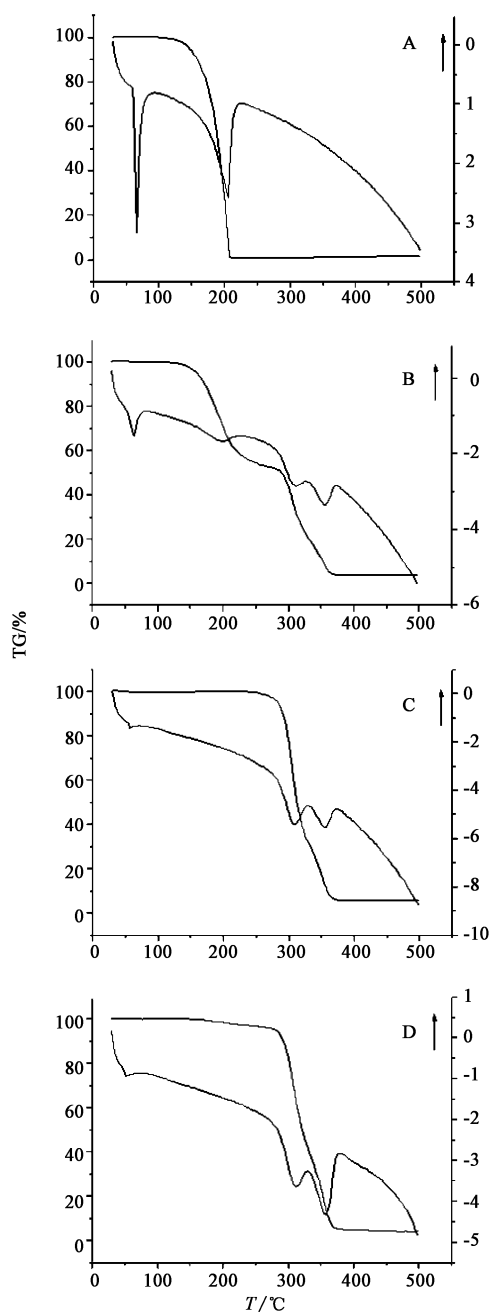


A. α -细辛脑原料药; B. α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒物理混合物; C. PLA 空白纳米粒; D. PLA- α -细辛脑纳米粒

图 1 不同样品的 IR

Fig. 1 IR of different samples

DSC-TG 曲线中, 发现由于 α -细辛脑原料药的融化温度和 PLA 的玻璃转化温度较为接近, 二者相互重合掩盖, 而原料药的吸热分解峰(200 $^{\circ}\text{C}$ 左右)及 300 ~ 350 $^{\circ}\text{C}$ 时 PLA 载体的 2 个吸热峰仍可观察到, 且峰强度均有所减弱。但在 PLA- α -细辛脑纳米粒的 DSC-TG 曲线中, 只能观察到 PLA 的玻璃转化温度(56.75 $^{\circ}\text{C}$)及其特征的双吸热峰(300 ~ 350 $^{\circ}\text{C}$), 并没有看到 α -细辛脑原料药的吸收峰, 说明



A. α -细辛脑原料药; B. α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒物理混合物;
C. PLA 空白纳米粒; D. PLA- α -细辛脑纳米粒

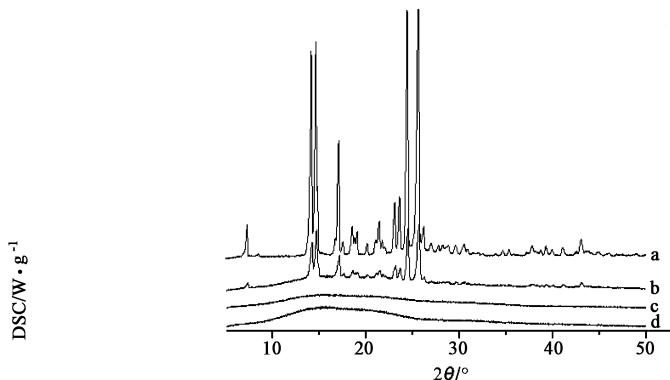
图 2 不同样品的 DSC

Fig. 2 DSC of different samples

α -细辛脑原料药可能是以分子状态分散或非晶型状态存在于 PLA 载体中。

2.2.5 X 射线衍射分析 Cu-K α 靶 (高压 40 kV, 管流 100 mA), 扫描步长 0.02 度, 扫描范围 5 ~ 50 度, 扫描速度 20 度/min, 室温测试。分别记录 α -细辛脑原料药, PLA 空白纳米粒, PLA- α -细辛脑纳米粒及 α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒的物理混合物的 X 射线衍射图谱, 见图 3。结果发现原料药在 8 ~ 27 度

有一系列明显的特征结晶衍射峰, 验证了 α -细辛脑原料药的晶体特性; PLA 空白纳米粒没有特征结晶衍射峰, 显示了 PLA 的非晶型特性。原料药与 PLA 纳米粒的物理混合物的衍射曲线中, 在 8 ~ 27 度可观察到一系列峰强度有所减弱的结晶衍射峰, 而在 PLA- α -细辛脑纳米粒的衍射曲线中仅有一较宽吸收峰, 说明 α -细辛脑原料药是以非晶型状态存在于 PLA 载体中的。



a. α -细辛脑; b. α -细辛脑与 PLA 空白纳米粒的物理混合物; c. PLA 空白纳米粒; d. PLA- α -细辛脑纳米粒

图 3 不同样品的 XRD

Fig. 3 XRD of different samples

2.2.6 Zeta 电位的测定 除壳聚糖外, 其他大部分载体为阴离子聚合物, 其 Zeta 电位为负值^[14-15]。此外, 有文献报道 Zeta 电位与 pH, 载药量, 稀释介质及稀释倍数等密切相关^[16-17]。蘸取少量 PLA- α -细辛脑纳米粒, 加水约 5 mL, 稀释使其分散均匀, 25 °C 测得 Zeta 电位 -20.4 mV, 表明 PLA- α -细辛脑纳米粒带负电, 在水溶液中相对较稳定。

2.3 体外释放特性分析 根据文献报道^[18-19], 约 35 °C 时, α -细辛脑在水中的溶解度约 0.15 g · L⁻¹; 随着溶剂的不同, 其溶解度也不同, 其中在无水乙醇中较大, 35 °C 能达到 246.89 g · L⁻¹。有文献报道鼻用制剂体外释放研究的释放介质为生理氯化钠溶液或 pH 4.5 的乙酸缓冲液^[20-21], 由于鼻腔环境的 pH 5.15 ~ 6.15^[22-23], 而体液的 pH 一般偏碱性, 因此, 为了符合不同途径给药后药物在体内释放的生理条件, 保证制剂体内外有较好的相关性, 选择含 0.5% 聚山梨酯-80 (tween-80)^[24] 的 pH 5.5 和 7.4^[25] 的磷酸盐缓冲液进行体外释放特性研究, 分别模拟鼻腔给药和静脉给药的体内环境。目前, 一般采用透析法^[26-27]、超速离心法^[28-29]、扩散池法^[30] 等进行纳米粒的体外释放性能研究, 由于超速离心法较难反映药物释放的动态过程, 而扩散池法成本较高, 故选择透析法。

透析袋一侧先系紧,并将其浸润在 50 mL 的释放介质中过夜,精密称取 α -细辛脑原料药及 PLA- α -细辛脑纳米粒(以 α -细辛脑计为 5 mg)装入透析袋中,加入释放介质 5 mL,将透析袋另一端系紧,将透析袋完全浸没在释放介质中,置于恒温振荡仪中开始进行动态透析,温度设置(37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,振荡频率 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,按规定的时间每次取样 $100 \mu\text{L}$, $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,计算药物累积释放率,绘制体外释放曲线,见图 4。结果发现 PLA- α -细辛脑纳米粒在 pH 5.5 或 7.4 的条件下,其释放均呈双相状态。与 α -细辛脑原料药相比,在前 48 h 内纳米粒的释放速率大于原料药,前 24 h 尤为明显,这主要是纳米粒表层或表面的 α -细辛脑被释放出来,但 48 h 后,纳米粒的释放速率小于 α -细辛脑原料药,这可能是包裹在纳米粒内部的 α -细辛脑通过纳米材料降解慢慢释放或通过骨架慢慢扩散而进一步释放出来^[31]。说明纳米粒初始阶段的释药遵守溶胀控制机制,而后期则主要遵守扩散控制机制^[32],这与其他微球、纳米粒及脂质体的释放类似^[33-35]。 α -细辛脑原料药中药物的释放前期较缓慢,但约在 144 h 时已基本释放结束,而纳米粒约需 336 h 才能释放结束,说明纳米粒具有一定的缓释作用。此外,还发现 pH 对 α -细辛脑的释放具有一定的影响, α -细辛脑在释放介质(pH 5.5)中的释放速率均大于释放介质(pH 7.4)中的,这与相关文献报道一致^[36]。

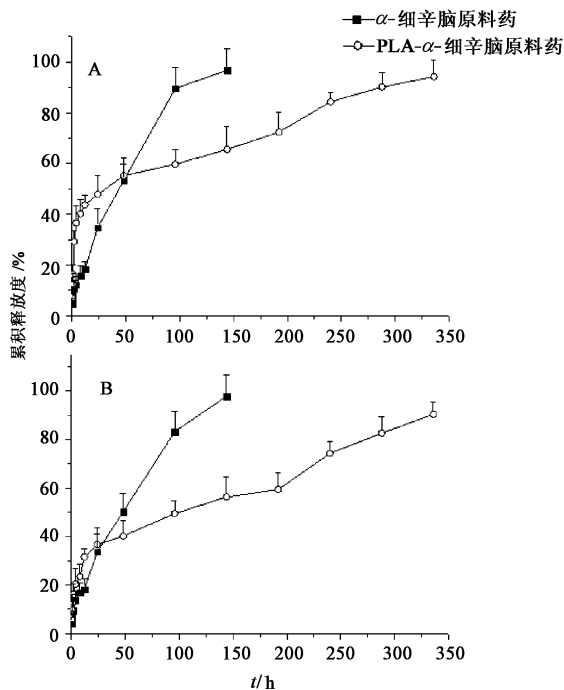
2.4 鼻黏膜毒性研究

2.4.1 药物制备及给药

临用前将 PLA- α -细辛脑纳米粒加水配成 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 混悬液,供鼻腔给药。SD 大鼠 9 只,随机分成 3 组,每组 3 只,分别为生理盐水组(阴性),1% 去氧胆酸钠生理盐水组(阳性)和 PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液组,每只大鼠每天分别给予溶液(或混悬液) $40 \mu\text{L}$,两边鼻孔各 $20 \mu\text{L}$,每日 1 次,连续给药 7 d。

2.4.2 鼻纤毛毒性样品采集及处理

第 8 天将大鼠处死,取下含有鼻黏膜的鼻中隔,用生理盐水洗净,按文献^[37]中方法处理。鼻中隔黏膜用 2.5% 戊二醛固定,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,用 1% 锇酸固定,分别用体积分数为 30%,50%,70%,90%的乙醇浸泡 5 min,加无水乙醇浸泡 2 次,每次 5 min,乙酸正戊酯置换, CO_2 临界点干燥后离子溅射仪喷金,制备电镜标本,扫描电镜观察,见图 5。结果发现生理盐水组的大鼠鼻纤毛浓密,规律有序;1% 去氧胆酸钠组纤毛脱落,鼻黏膜受损严重,基底细胞裸露,基部未裸露区纤毛稀疏;PLA-



A. pH 5.5 的溶出介质;B. pH 7.4 的溶出介质

图 4 α -细辛脑原料药及 PLA- α -细辛脑纳米粒中 α -细辛脑的体外释放曲线($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 *In vitro* release profiles of α -asarone from α -asarone raw materials and PLA- α -asarone nanoparticles($\bar{x} \pm s, n = 3$)

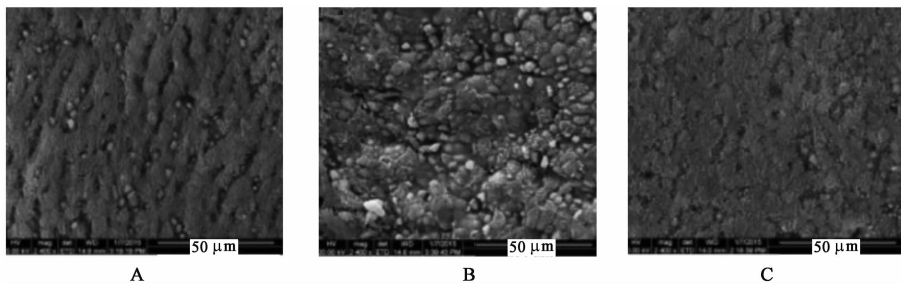
α -细辛脑纳米粒组的鼻黏膜纤毛大部分视野内浓密,仅有少部分区域出现纤毛脱落的情况。说明 PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液对鼻纤毛刺激性低,无明显毒性。

2.4.3 鼻黏膜细胞病理切片样品采集及处理

大鼠连续给药 7 d,第 8 天处死,取下含有鼻黏膜的鼻中隔,用生理盐水洗净,按文献^[38-39]中方法处理。取下的鼻中隔黏膜用 10% 甲醛固定后进行组织修剪,常规脱水,石蜡包埋、切片(切片厚度约为 $4 \sim 5 \mu\text{m}$),苏木素-伊红(HE)染色,光镜组织学观察,见图 6。结果表明:生理盐水组鼻黏膜表层被假复层柱状纤毛上皮,细胞无变性、坏死,黏膜下层无炎细胞浸润,黏膜下透明软骨清晰可见。1% 去氧胆酸钠生理盐水组鼻黏膜上皮中度变性坏死,黏膜下血管重度充血,并可见少量炎细胞浸润。PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液组鼻黏膜表层均被假复层柱状纤毛上皮,细胞无变性、坏死,黏膜下层无炎细胞浸润,黏膜下透明软骨清晰可见。因此,可以认为优化处方制备的 PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液鼻腔给药后对鼻黏膜组织无明显的毒性作用。

3 讨论

鼻腔给药是指以鼻腔作为给药或刺激部位,药物经鼻黏膜吸收或直接作用于鼻黏膜而发挥局部或



A. 生理盐水组; B. 1% 去氧胆酸钠生理盐水组; C. PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液组 (图 6 同)

图 5 不同组别大鼠鼻纤毛的 SEM

Fig. 5 SEM of rat nasal cilia from different group

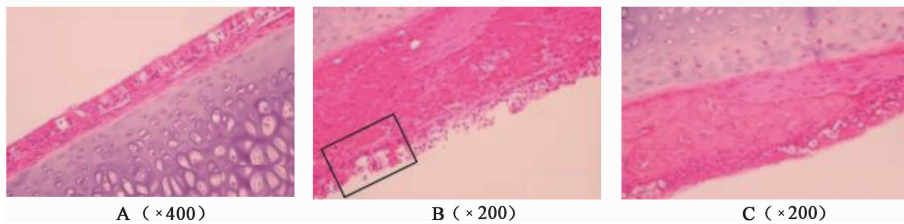


图 6 PLA- α -细辛脑纳米粒对大鼠鼻黏膜组织的影响(HE)

Fig. 6 Effect of PLA- α -asarone nanoparticles on rat nasal mucosa(HE)

全身性治疗作用,达到防病、治病的一种外治方法。一般情况下,在鼻纤毛的清除作用下,液体制剂在鼻腔的滞留时间仅 15 ~ 30 min,粉末和颗粒的时间相对较长,但也仅为 20 ~ 30 min,通过制剂手段可延长到 3 ~ 4 h。药物在鼻腔内的滞留时间是影响药物鼻黏膜吸收的重要因素之一,目前促进药物在鼻黏膜吸收的辅料主要包括吸收促进剂、生物黏附剂、酶抑制剂等。此外,根据本文中的溶出试验结果可知,PLA- α -细辛脑纳米粒在 48 h 前的释放速率快于原料药,48 h 后释放速率则比原料药慢,释放呈双相状态。由于鼻纤毛的清除作用,制剂体内外试验,尤其是溶出结果与体内药物吸收的相关性,以及纳米粒经鼻腔给药吸收的机制并不明确,因此,PLA- α -细辛脑纳米粒体内能否起到缓释长效作用需进一步研究证实。

PLA 是制备纳米粒的常用载体,在水的作用下,最终代谢成二氧化碳和水,具有良好的生物可降解性和安全性,但其为带负电荷的载体,鼻黏膜表面呈负电荷状态,理论上正电荷药物更利于吸收,如壳聚糖。目前有研究将两者结合在一起制备纳米粒^[40],以期达到药物肿瘤部位递送的目的。纳米粒作为胶态药物载体有许多独特的优点,已成为国内外医药行业重要的研究方向。鼻腔给药是提高药物脑组织浓度的另一重要途径,将药物包载于纳米粒中提高其稳定性后,再通过经鼻给药来提高其脑靶向性能。本文将 α -细辛脑制备成 PLA- α -细辛脑纳米粒,并对

其进行表征、体外溶出性能及鼻黏膜毒性等研究,结果表明 PLA- α -细辛脑纳米粒混悬液鼻腔给药后对鼻黏膜组织无明显毒性,为其通过鼻腔给药方式用于药物体内研究提供了依据。

[参考文献]

[1] Cho J, Kim Y H, KONG J Y, et al. Protection of cultured rat cortical neurons from excitotoxicity by asarone, a major essential oil component in the rhizomes of *Acorus gramineus* [J]. Life Sci, 2002, 71(5): 591-599.
[2] Manikandan S, Devi R S. Antioxidant property of alpha-asarone against noise-stress-induced changes in different regions of rat brain [J]. Pharmacol Res, 2005, 52(6): 467-474.
[3] LIAO W P, CHEN L, YI Y H, et al. Study of antiepileptic effect of extracts from *Acorus tatarinowii* Schott [J]. Epilepsia, 2005, 46(Suppl 1): 21-24.
[4] Pages N, Maurois P, Delplanque B, et al. Activities of α -asarone in various animal seizure models and in biochemical assays might be essentially accounted for by antioxidant properties [J]. Neurosci Res, 2010, 68(4): 337-344.
[5] Gilani A U, Shah A J, Ahmad M, et al. Antispasmodic effect of *Acorus calamus* Linn. is mediated through calcium channel blockade [J]. Phytother Res, 2006, 20(12): 1080-1084.
[6] 张青, 马伟从, 李慧, 等. 细辛脑注射液治疗呼吸系统疾病的 Meta 分析 [J]. 中国循证医学杂志, 2010, 10(10): 1174-1181.
[7] Limón I D, Mendieta L, Díaz A, et al. Neuroprotective effect of alpha-asarone on spatial memory and nitric oxide levels in rats injected with amyloid-beta₍₂₅₋₃₅₎ [J].

- Neurosci Lett, 2009, 453(2):98-103.
- [8] HUANG C, LI W G, ZHANG X B, et al. Alpha-asarone from *Acorus gramineus*, alleviates epilepsy by modulating A-type GABA receptors [J]. Neuropharmacology, 2013, doi:10.1016/j.neuropharm.2012.09.001.
- [9] 杨正鸿, 吴闯. α -细辛脑在人体的生物利用度研究 [J]. 中国医院药学杂志, 1997, 17(4):165-167.
- [10] LU J, FU T M, QIAN Y Y, et al. Distribution of α -asarone in brain following three different routes of administration in rats [J]. Eur J Pharm Sci, 2014, doi: 10.1016/j.ejps.2014.06.006.
- [11] MO L, HOU L, GUO D, et al. Preparation and characterization of teniposide PLGA nanoparticles and their uptake in human glioblastoma U87MG cells [J]. Int J Pharm, 2012, 436(1/2):815-824.
- [12] Kumar M, Kakkar V, Mishra A K, et al. Intranasal delivery of streptomycin sulfate (STRS) loaded solid lipid nanoparticles to brain and blood [J]. Int J Pharm, 2014, 461(1/2):223-233.
- [13] Dubernet C. Thermoanalysis of microspheres [J]. Thermochim Acta, 1995, 248(1):259-269.
- [14] 何文, 匡长春, 张洪, 等. 壳聚糖的分子参数对载药壳聚糖纳米粒体外性质的影响研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(6):438-440, 453.
- [15] ZHANG B, WANG H, LIAO Z, et al. EGFP-EGF1-conjugated nanoparticles for targeting both neovascular and glioma cells in therapy of brain glioma [J]. Biomaterials, 2014, 35(13):4133-4145.
- [16] 林箐, 王梦馨, 吴佳奕, 等. 壳聚糖纳米粒 Zeta 电位与载药量关系初探 [J]. 华西药学杂志, 2012, 27(3):301-303.
- [17] 王艳芝, 郑甲信, 王海玲, 等. β -榄香烯固体脂质纳米粒 zeta 电位影响因素检测 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2010, 45(1):137-140.
- [18] 王光明, 潘艳, 孔秋玲, 等. 细辛脑羟丙基- β -环糊精溶液剂鼻腔给药脑内释药可行性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3):16-18.
- [19] 刘宇, 王东凯. α -细辛脑- β -环糊精包合物的制备及体外溶出度测定 [J]. 中国药剂学杂志, 2003, 1(4):154-159.
- [20] 毕云生, 梁爱君, 于燕莉, 等. 昂丹司琼鼻腔给药体外释放及体内相关性研究 [J]. 解放军药学学报, 2011, 27(1):30-32.
- [21] 陈明霞, 张玉杰, 李维峰, 等. 重组水蛭素-2 鼻腔黏附纳米粒的体外评价 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(13):1459-1461.
- [22] 叶秀秦. 鼻腔给药治疗疾病的研究进展 [J]. 海峡药学, 2006, 18(4):160-162.
- [23] Dahlin M, Jansson B, Björk E. Levels of dopamine in blood and brain following nasal administration to rats [J]. Eur J Pharm Sci, 2001, 14(1):75-80.
- [24] WANG F, ZHANG D, ZHANG Q, et al. Synergistic effect of folate-mediated targeting and verapamil-mediated P-gp inhibition with paclitaxel-polymer micelles to overcome multi-drug resistance [J]. Biomaterials, 2011, 32(35):9444-9456.
- [25] TANG B, FANG G, GAO Y, et al. Liposomes loading paclitaxel for brain-targeting delivery by intravenous administration: *In vitro*, characterization and *in vivo* evaluation [J]. Int J Pharm, 2014, 475(1/2):416-427.
- [26] 张馨欣, 操洪欣, 甘勇, 等. 羟基喜树碱纳米脂质载体的制备及体外释放 [J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(12):820-832.
- [27] 龚露, 胡鲲, 杨先乐. 恩诺沙星壳聚糖纳米粒的制备及其体外释放特性的研究 [J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(3):321-326.
- [28] 何文, 匡长春, 张洪, 等. 壳聚糖的分子参数对载药壳聚糖纳米粒体外性质的影响研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(6):438-453.
- [29] Fernández-Urrusuno R, Calvo P, Remuñán-López C, et al. Enhancement of nasal absorption of insulin using chitosan nanoparticles [J]. Pharm Res, 1999, 16(10):1576-1581.
- [30] Teeranachaideekul V, Souto E B, Junyaprasert V B, et al. Cetyl palmitate-based NLC for topical delivery of Coenzyme Q (10)-development, physicochemical characterization and *in vitro* release studies [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 67(1):141-148.
- [31] 徐辉碧. 纳米医药 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2004: 132-133.
- [32] 郑爱萍, 刘海宏, 李宏斌, 等. 5-氟脲嘧啶壳聚糖微球的制备及体外释放特性 [J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(4):318-323.
- [33] 伍善广, 裴世成, 陈丽, 等. α -细辛脑海藻酸钙微球的制备及体外释放药物考察 [J]. 海峡药学, 2011, 23(8):29-31.
- [34] 陈颖, 叶娟, 陈艳婷, 等. α -细辛脑脂质体的制备与体外释放药物的考察 [J]. 今日药学, 2013, 23(1):11-13, 22.
- [35] 吕凤娇, 许小平. 阿霉素纳米粒体外释放模型的拟合研究 [J]. 计算机与应用化学, 2010, 27(7):915-918.
- [36] 谢演晖, 陈安丽, 严小红. 细辛脑片溶出度的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(3):331-333.
- [37] 唐文燕. 人参皂苷 Rg₃ 鼻腔给药微球制剂的研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [38] Martin E, Verhoef J C, Romeijn S G, et al. Acute histopathological effects of benzalkonium chloride and absorption enhancers on rat nasalepithelium *in vivo* [J]. Int J Pharm, 1996, 141(1/2):151-160.
- [39] 张奕, 蒋新国, 张奇志. 胰岛素鼻腔喷雾剂的大鼠鼻纤毛毒性考察 [J]. 中国临床药理学杂志, 1999, 8(4):230-232.
- [40] Parveen S, Sahoo S K. Long circulating chitosan/PEG blended PLGA nanoparticle for tumor drug delivery [J]. Eur J Pharmacol, 2011, 670(2/3):372-383.

[责任编辑 刘德文]