

β -细辛醚微乳鼻腔给药脑内靶向性评价

张龙开, 许日鑫, 蒋梅, 严慕贤, 陈志辉, 欧斯健, 魏刚*

广州中医药大学 新药开发研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 目的 探索 β -细辛醚微乳利用鼻腔的鼻-脑通道实现鼻脑靶向给药的可行性。方法 按 0.42 mL/kg 剂量鼻腔给予 β -细辛醚微乳后用 HPLC 法测定药物在血浆中及脑中的浓度, 并以 iv 自制微乳注射液为对照, 以 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 指标考察 β -细辛醚微乳鼻腔给药的脑靶向性。结果 β -细辛醚微乳鼻腔给药后得到的 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值均高于 iv 给药。结论 鼻腔给予含药微乳系统后脑靶向性良好, 有望成为治疗阿尔茨海默病的新型给药途径。

关键词: β -细辛醚; 微乳; 鼻腔给药; 脑靶向; 阿尔茨海默病

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)01-0086-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.01.017

Evaluation of brain-targeting of β -asarone microemulsion by intranasal administration

ZHANG Long-kai, XU Ri-xin, JIANG Mei, YAN Mu-xian, CHEN Zhi-hui, OU Si-jian, WEI Gang

Research Center of New Drug Development, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To explore the feasibility of brain-targeting intranasal administration with β -asarone microemulsion by nose-brain pathway. **Methods** The concentration of β -asarone in plasma and brain following nasal administration of β -asarone microemulsion (0.42 mL/kg) was measured by HPLC, taking the iv administration of self microemulsion injection as control. And the brain-targeting was evaluated by ratio of $AUC_{\text{brain}}/AUC_{\text{plasma}}$. **Results** The ratio of $AUC_{\text{brain}}/AUC_{\text{plasma}}$ obtained after intranasal administration was significantly higher than that after iv administration. **Conclusion** The brain-targeting of β -asarone is better after intranasal administration which could become a new drug delivery system for the treatment of Alzheimer's disease.

Key words: β -asarone; microemulsion; intranasal administration; brain-targeting; Alzheimer's disease

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD), 是一种与年龄相关的中枢神经系统退行性疾病。随着老龄人口的不断增多, AD 发病率不断上升, AD 已成为继肿瘤、心脏病、脑卒中之后引起老年人死亡的第四大疾病, 具有发病率高、死亡率高、致残率高等特点, 是老年人的常见病^[1]。常规途径 (胃肠道、静脉) 给药, 往往由于血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 的存在, 药物在脑内的浓度甚低, 影响疗效。 β -细辛醚是石菖蒲挥发油主要成分, 质量分数占 60% 以上, 是石菖蒲挥发油中的 6 个特征成分之一^[2], 是石菖蒲在神经系统、心血管系统等发挥临床疗效的重要物质基础^[3-4]。由于 β -细辛醚为挥发油成分, 在水中溶解度较低, 口服吸收较差,

生物利用度低^[5]。近年的研究表明, 药物经鼻给药可绕过 BBB 直接进入脑而发挥疗效^[6], 因此鼻腔给药可望成为 β -细辛醚微乳治疗 AD 疾病的较好选择。微乳制剂能有效提高药物的溶解度, 促进药物在体内的吸收, 提高药物的生物利用度, 且微乳载体有选择器官或组织靶向性功能。本实验以 iv 给药途径为对照, 定量研究 β -细辛醚微乳鼻腔给药的脑内靶向性, 从药物动力学角度探讨 β -细辛醚微乳经鼻给药防治 AD 的可行性。

1 材料与仪器

1.1 仪器

玻璃匀浆器, 沈阳玻璃仪器厂; 涡旋振荡器, 上海乔跃电子有限公司; HC-3018 型高速离心机,

收稿日期: 2013-07-07

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09103-429)

作者简介: 张龙开 (1988—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药新药研究与指纹图谱分析工作。Tel: (020)39358519 E-mail: zlk525@sina.com

*通信作者 魏刚 Tel: (020) 39358519 E-mail: weigang021@163.com

安徽中科中佳科学仪器有限公司；超声清洗器，昆山市超声仪器有限公司；LC-20AT 高效液相色谱仪，日本岛津株式会社。

1.2 试药

β -细辛醚对照品，自制，质量分数达 99.17%；细辛醚，采用冷冻结晶法自制，质量分数为 98.3%； β -细辛醚微乳，自制，批号 20130306；肉豆蔻酸异丙酯 (IPM)，阿拉丁试剂有限公司，批号 1103758；聚氧乙烯-35-蓖麻油 (EL-35)，德国巴斯夫股份有限公司，批号 86096077Q0；丙三醇，天津市百世化工有限公司；氯化钠，天津大茂化学试剂有限公司；磷酸二氢钾，分析纯，天津市福晨化学试剂厂；十二烷基磺酸钠，分析纯，天津市瑞金特化学品有限公司；甲醇，色谱纯，德国 Merck 公司；甲醇，分析纯，光华化学厂有限公司。

1.3 动物

SD 大鼠，体质量为 220~280 g，雌雄各半，购于广州中医药大学实验动物中心。许可证号：SCXK (粤) 2008-0020。

2 方法

2.1 色谱条件

参照文献方法^[7]，色谱柱为 Waters Shield C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)，流动相为甲醇-磷酸盐 (70:30) (1 000 mL 水中含 1.2 g 磷酸二氢钾和 0.8 g 十二烷基磺酸钠)，体积流量为 1.0 mL/min，检测波长 251 nm，柱温 37 $^{\circ}$ C，进样量为 20.0 μ L。

2.2 β -细辛醚微乳的制备与测定

β -细辛醚微乳制备参考本课题前期研究所建立的方法^[8]，处方为 β -细辛醚 1.0 g，IPM 2 g，EL-35-丙三醇 ($K_m=4:1$) 8 g，蒸馏水 25 g，所形成的微乳澄清透明均一，有蓝色乳光。用甲醇配制成一定浓度的供试品用于实验，按“2.1”项下色谱条件进行样品测定。

2.3 β -细辛醚微乳鼻腔与 iv 给药和样品采集

取 SD 大鼠 54 只，随机分为 2 组，鼻腔给药组和尾 iv 给药组，每组 27 只。ip 水合氯醛 (0.3 g/kg) 麻醉，仰卧位固定，用微量注射器前接一柔软 PE 管插入大鼠鼻孔约 5 mm 进行鼻腔给药，缓慢入药，给药时间控制在 2 min 内。剂量为 0.42 mL/kg (9 mg/kg，参考本课题前期研究结果^[8]， β -细辛醚微乳载药量为 21.50 mg/mL)。分别于给药后 2、5、10、15、30、45、60、120、240 min 眼眶静脉取血，立即处死，断头，剪开枕骨内壁，打开颅骨，取出大

鼠脑组织，用生理盐水冲洗，去除血污，并用滤纸吸干，于-40 $^{\circ}$ C 冰箱贮藏备用。尾 iv 给药采用常规方法，剂量为 9 mg/kg，样品采集方法同鼻腔给药。

2.4 血浆样品及脑组织样品的处理与分析^[5]

取大鼠全血约 1.5 mL，5 000 r/min 离心 10 min，取全部血清，置 2 mL 离心管中，按 3 倍量加入甲醇，旋涡振荡 1 min，5 000 r/min 离心 10 min，取全部上清液，4 $^{\circ}$ C 冷藏备用。脑组织样品按 3 mL/g 加入甲醇匀浆，匀浆液按 5 000 r/min 离心 10 min，取上清液，4 $^{\circ}$ C 冷藏备用。

3 结果

3.1 给药后各时间点血药浓度的测定

大鼠鼻腔和静脉给予 β -细辛醚微乳后 β -细辛醚血药浓度-时间曲线见图 1。鼻腔给药 2 min 血中即可以检测到 β -细辛醚，但血药浓度较低，为 0.177 6 μ g/mL，5 min 达峰值， C_{max} 为 0.429 7 μ g/mL。iv 给药 2 min 血中即可以检测到 β -细辛醚，血药浓度较高，达到 0.265 3 μ g/mL，5 min 达峰， C_{max} 为 0.637 2 μ g/mL。iv 给药后血中 β -细辛醚消除速度比鼻腔给药快。

β -细辛醚鼻腔给药在血中的达峰时间与 iv 给药相同，一方面是由于鼻腔微细血管丰富，药物经鼻腔给药后能迅速吸收进血，同时， β -细辛醚是强脂溶性药物，在微乳制剂以分子形式存在，而且微乳中的乳化剂可降低药物与鼻黏膜之间的界面张力，改变药物与鼻黏膜的相互作用，促进了 β -细辛醚进入大循环。

β -细辛醚 iv 给药在血中达峰浓度比鼻腔给药高，这是因为药物经鼻腔给药有个吸收过程，药物不能百分之百被吸收，所以药物的血药浓度要低于静脉给药。

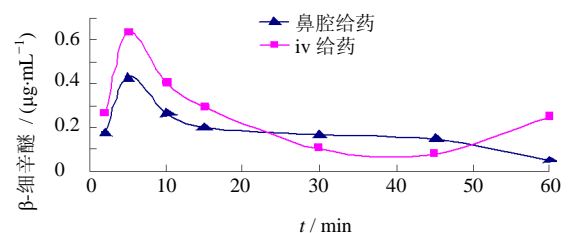


图 1 β -细辛醚微乳鼻腔和静脉给药后血浆中 β -细辛醚药-时曲线图 ($n=3$)

Fig. 1 Concentration-time curves of β -asarone in plasma after intranasal and iv administration of β -asarone microemulsion ($n=3$)

3.2 给药后各时间点脑匀浆药物浓度的测定

大鼠鼻腔和静脉给予 β -细辛醚微乳后 β -细辛醚在脑匀浆中的浓度-时间曲线见图 2。鼻腔给药和静脉给药在 2 min 时脑组织匀浆中即可检测到 β -细辛醚，但鼻腔给药比 iv 给药脑药浓度高，鼻腔给药 5 min 达峰值， C_{\max} 为 0.755 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。iv 给药 15 min 达峰值， C_{\max} 为 0.420 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

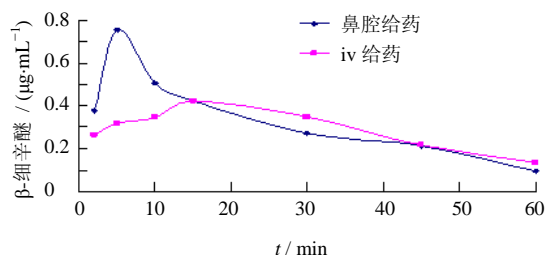


图 2 β -细辛醚微乳鼻腔和静脉给药后脑组织匀浆中 β -细辛醚药-时曲线图 ($n=3$)

Fig. 2 Concentration-time curves of β -asarone in brain tissue homogenate after intranasal and iv administration of β -asarone microemulsion ($n=3$)

表 1 β -细辛醚微乳鼻腔和静脉给药后 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值

Table 1 $AUC_{\text{brain}}/AUC_{\text{plasma}}$ ratios of β -asarone in brain tissue homogenate after intranasal and iv administration of β -asarone microemulsion

给药途径	$AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$						
	0→2 min	0→5 min	0→10 min	0→15 min	0→30 min	0→45 min	0→60 min
鼻腔	1.49	1.33	1.25	1.21	1.21	1.15	0.98
iv	0.83	0.67	0.75	0.78	0.97	1.13	0.97

β -细辛醚微乳鼻腔给药后， $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 在 2 min 即达很高数值，达峰值为 1.49，之后逐渐降低，这是因为鼻腔给药后药物在脑内达峰浓度较血液中高，随着时间的延长，进入脑组织的药物不断减少，且药物在脑内不断消除，所以鼻腔给药后 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值在达峰后不断降低。

iv 给药后 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值在 45 min 之前呈现逐渐升高的趋势，然后下降。这是因为 β -细辛醚是一种亲脂性的小分子药物，静脉给药入血后可以通过 BBB 入脑，且随着时间的延长，进入脑中的药物浓度与血药浓度之比逐渐增大，45 min 后该比值下降。

在鼻腔给药后，在相同时间点，脑中的药物浓度略大于血中药物浓度，而且鼻腔给药后的 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值高于 iv 给药，表明鼻腔给药有一定的脑

β -细辛醚鼻腔给药在脑组织中达峰时间比 iv 给药快，达峰浓度也较 iv 给药高。这可能与鼻腔给药有多条通路可使药物到达脑组织有关， β -细辛醚微乳经鼻腔给药后，一部分药物经鼻腔呼吸部黏膜吸收进入血液，经大循环透过 BBB 进入脑组织，另一部分药物通过嗅黏膜或嗅神经进入脑组织。

iv 给药后 β -细辛醚进入血液循环，然后才通过 BBB 入脑，所以 iv 给药的脑组织达峰时间较鼻腔给药慢，且随着时间的延长，药物在血液中不断消除，大部分药物不会通过 BBB 进入脑组织，所以 iv 给药的药物达峰浓度较鼻腔给药低。

3.3 β -细辛醚微乳鼻腔给药脑内靶向性评价

以 iv 给药为对照，以 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值评价 β -细辛醚微乳鼻腔给药的脑内靶向性。其依据是：如果药物经鼻腔给药后只有通过 BBB 一条途径转运入脑，那么鼻腔给药后药物有吸收过程，不能瞬时入血，脑组织和血浆 AUC 比值应低于 iv 给药。因此，比较鼻腔给药和 iv 给药的 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 值，可以初步判断药物靶向性。鼻腔、iv 给药后 $AUC_{\text{脑}}/AUC_{\text{血浆}}$ 计算结果见表 1。

这也充分说明药物经鼻腔给药，有多条通路到达脑组织，一部分药物经鼻腔呼吸部黏膜吸收进入血液，经血液循环透过 BBB 进入脑组织，另一部分药物通过嗅黏膜或嗅神经进入脑组织，这与文献报道一致^[9-10]。

4 讨论

大鼠是研究鼻腔给药脑靶向常用的动物，且成本低、容易得到，所以本实验采用大鼠作为药物脑靶向药物的研究对象。但是大鼠鼻腔小，给药不方便，容易造成给药误差，而且大鼠的鼻腔结构与人的不同，其嗅黏膜在整个鼻黏膜的比例比人的鼻腔大很多，大鼠的鼻腔吸收与人是不同的。所以不能直接将大鼠的研究数据推知于人，只能作为人体的一种参考。

在鼻腔给药的脑靶向性研究中，有的研究者通

过考察大鼠脑组织不同部位(嗅球、嗅区、脑脊液、小脑、延髓、大脑)药物的浓度,发现药物在脑组织不同部位的药物浓度不同,初步得出药物脑靶向的通路。本研究中仅考察了 β -细辛醚鼻腔给药后脑组织中的药物浓度,后续的研究中可以进一步考察大鼠脑组织不同部位中 β -细辛醚的浓度,进一步考察其脑靶向性。

参考文献

- [1] 李秀英, 郑力, 姜同英, 等. 姜黄素鼻用微乳凝胶剂的制备及性质考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 17(2): 98-104.
- [2] 金建忠, 哈成勇. 超临界 CO_2 萃取石菖蒲精油的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(8): 1159-1160.
- [3] 刘晓鸿, 张明生. β -细辛醚的药代及药理作用研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2009, 22(5): 542-544.
- [4] 兰烨荣, 刘素香, 张铁军, 等. 细辛醚的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(2): 252-257.
- [5] 吴宏斌, 方永奇. β -细辛醚在大鼠体内的药代动力学 [J]. 药学学报, 2004, 39(10): 836-838.
- [6] 杨莉, 高颖昌, 赵志刚. 鼻腔给药的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(22): 1685-1688.
- [7] 柯雪红, 魏刚, 方永奇. HPLC 测定石菖蒲药材中 β -细辛醚、 α -细辛醚的含量 [J]. 中成药, 2002, 24(10): 791-792.
- [8] 许日鑫, 石添香, 廖娴, 等. β -细辛醚微乳的制备及其性质考察 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 31-35.
- [9] 王鹏, 肖学风. 经鼻脑靶向递药系统的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(1): 96-100.
- [10] 王俏, 陈国神. 天麻苷元大鼠鼻腔和静脉注射给药的脑药动力学研究 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19(8): 708-712.