

天麻素淀粉微球的制备及其鼻黏膜黏附性与体外释药特性考察

石森林, 李晓琦, 施笑晖, 张光霁*

浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

摘要: **目的** 确定天麻素淀粉微球的处方工艺, 并考察其鼻黏膜黏附特性与体外释药特性。**方法** 采用复乳化交联法制备天麻素淀粉微球, 以粒径、载药量和包封率为评价指标, 通过单因素考察和均匀设计法优化天麻素淀粉微球的处方工艺; 选择蟾蜍上颌黏膜为评价模型, 黏膜平均滞留时间为指标, 评价天麻素淀粉微球的黏膜黏附力; 以天麻素原料药为对照, 采用浆法, 进行天麻素淀粉微球体外释药实验, 计算累积释药率, 并用不同释放模型拟合体外释药曲线, 综合考察天麻素淀粉微球的释药特性。**结果** 优化后的处方及制备工艺条件: 天麻素 2.0 g, 淀粉 4.5 g, 液体石蜡 100.0 mL, Span 80 用量 3.5 g, ECH 5.1 mL, 制备温度 40 ℃, 搅拌速率 1 000 r/min。天麻素淀粉微球的平均粒径为 $(47.69 \pm 1.92) \mu\text{m}$, 载药量和包封率分别为 $(9.78 \pm 0.70)\%$ 和 $(35.72 \pm 3.28)\%$; 无黏附性粉末的平均滞留时间为 $(176.92 \pm 23.25) \text{ s}$, 折算为人体鼻黏膜滞留时间仅为 20~30 min, 而天麻素淀粉微球的平均滞留时间延长至 $(944.33 \pm 68.29) \text{ s}$, 折算为人体鼻黏膜滞留时间约为 3 h; 天麻素淀粉微球 3 h 累积释药达 90% 以上, 释药过程符合 Weibull 模型, t_{50} 为 40.08 min, t_{90} 为 245.73 min。**结论** 采用复乳化交联法, 按所选处方工艺制备可得粒径均匀、载药量和包封率较高的天麻素淀粉微球; 所得微球具有良好的黏膜黏附与缓释性能, 可保证天麻素在微球鼻腔滞留期间平缓释放, 并基本释药完全。

关键词: 天麻素; 淀粉微球; 制备; 复乳化交联法; 均匀设计; 缓释; 黏膜黏附力; 体外释药特性

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)04-0585-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.04.010

Preparation of gastrodin starch microsphere and its nasal mucoadhesion and *in vitro* release characteristics

SHI Sen-lin, LI Xiao-qi, SHI Xiao-hui, ZHANG Guang-ji

Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: **Objective** To determine the prescription technology of gastrodin starch microsphere and investigate its nasal mucoadhesion and *in vitro* release characteristics. **Methods** Gastrodin starch microspheres were prepared by compound emulsion crosslinking method. According to the particle diameter, drug loading efficiency (DLE), and entrapment efficiency (EE), the best prescription technology was selected by using single-factor investigation and uniform design. Using toad palate mucosa as model and average residence time as indicator, mucoadhesion of gastrodin starch microsphere was evaluated. Using gastrodin API as a control, paddle method was applied to *in vitro* release test of gastrodin starch microspheres. The content of gastrodin was determined to calculate the cumulative release percentage. In addition, the curve of drug release *in vitro* was fitted with different release model to analyze the *in vitro* release characteristics of gastrodin starch microsphere in nasal cavity, synthetically. **Results** The optimum prescription and preparation technology of gastrodin starch microsphere were as follows: gastrodin 2.0 g, starch 4.5 g, liquid paraffin 100.0 mL, Span80 3.5 g, ECH 5.1 mL, preparation temperature 40 ℃, and rotational speed 1000 r/min. The particle diameter of gastrodin starch microsphere was $(47.69 \pm 1.92) \mu\text{m}$, the DLE and EE of microsphere were $(9.78 \pm 0.70)\%$ and $(35.72 \pm 3.28)\%$, respectively. It was about $(176.92 \pm 23.25) \text{ s}$ that in adhesive powder resided in nasal cavity, which translated into human nasal residence time was just 20—30 min, while the average residence time of gastrodin starch microspheres was extended to $(944.33 \pm 68.29) \text{ s}$, translated into human nasal residence time was about 3 h. The cumulated release percent of gastrodin starch microspheres was more than 90% in 3 h. Compared with other *in vitro* release models, Weibull model was the fittest model to gastrodin starch microspheres,

收稿日期: 2015-09-01

基金项目: 2012 年卫生部项目 (WKJ2012-2-035)

作者简介: 石森林, 男, 教授, 主要从事中药制剂新技术研究。Tel: 13157106148 E-mail: pjstone@163.com

*通信作者 张光霁, 男, 教授, 博士生导师。Tel: (0571)86613168 E-mail: zgj@zcmu.edu.cn

the t_{50} of gastrodin starch microspheres was 40.08 min, and t_{90} was 245.73 min. **Conclusion** Gastrodin starch microspheres prepared with optimum prescription technology have uniform particle diameter, high DLE and EE. Microspheres have good mucoadhesion and sustained release, ensure that gastrodin release gently and completely during the nasal retention period.

Key words: gastrodin; starch microspheres; preparation; complex emulsion crosslinking method; uniform design; sustained release; mucoadhesion; *in vitro* drug release characteristics

天麻素是兰科天麻属植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的主要有效成分, 具有镇静、镇痛、抗癫痫等多种药理作用, 广泛应用于偏头痛、晕眩等脑部疾病的治疗^[1-5]。天麻素为水溶性药物, 由于血脑屏障 (BBB) 的存在, 常规途径给药后脑内药物浓度低, 严重影响天麻素在脑部神经中枢的作用。相关文献报道^[6-7], 天麻素可经鼻吸收, 且在脑组织中分布高于静脉给药。天麻素在鼻腔内的释药量与鼻黏膜黏附性相关, 可因其黏附性显著增加^[8]。天然高分子聚合物淀粉具有良好的生物黏附特性, 遇到鼻黏液时可高度膨胀, 形成凝胶体系, 黏附在鼻黏膜表面, 可以延长药物的滞留时间^[9-10]。此外, 淀粉的生物相容性与生物降解性非常优良, 对鼻黏膜无毒性。

为解决普通剂型释药快、药物鼻黏膜滞留时间短、给药频繁及给药剂量大等问题, 本实验以淀粉为黏附材料, 采用复乳化交联法研制了天麻素淀粉微球。通过对比天麻素及天麻素淀粉微球对鼻黏膜的黏附力及其在鼻腔内的释药特性来评价天麻素淀粉微球处方与工艺的科学性、可行性, 为天麻素鼻用淀粉微球的后续开发提供理论依据。

1 仪器与材料

安捷伦 1200 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; XS105 Dual Range 型分析天平, 瑞士 Mettler-Toledo 仪器有限公司; JA2003N 型电子天平, 上海精密科学仪器科技有限公司; RCZ-6C2 型药物溶出度仪, 上海黄海药检仪器有限公司; DZF6050 型真空干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; 85-2A 数显恒温测速磁力搅拌器, 金坛市城东新瑞仪器厂; SHZ-82 恒温振荡器, 常州国华电器有限公司; Motic B2 Series System Microscope, 中国 MOTIC 公司; USB 工业相机 B-300, 像素: 3.0 Megapixel; 光学尺寸: 1/2; S-3000N 扫描电子显微镜, 日本 HITACHI 公司; Milli-Q Biocel 纯水机, 美国 Millipore 公司。

天麻素对照品, 批号 110807-200205, 质量分数 96.8%, 中国食品药品检定研究院; 天麻素原料药, 批号 0601-2012-05009, 质量分数 98.7%, 浙江诚意有限公司; 可溶性淀粉, 批号 23445, 阿拉丁试剂有限公司; 液体石蜡 (批号 20120227)、Span 80

(批号 20121023)、NaOH (批号 20130627)、环氧氯丙烷 (批号 20111018)、无水乙醇 (批号 20120922)、醋酸乙酯 (批号 20120702), 成都市科龙化工试剂厂; 丙酮, 批号 20120315, 杭州化学试剂有限公司; 活性炭, 批号 F20041027, 国药集团化学试剂有限公司; 水为超纯水。

中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor, 体质量 30~40 g, 由浙江中医药大学实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 淀粉微球制备方法

2.1.1 天麻素淀粉微球 称取淀粉适量, 溶于 0.1 g/mL 的 NaOH 溶液配成淀粉溶液, 静置 30 min 除去气泡, 作为初乳的“外相”。将天麻素分散于醋酸乙酯中作初乳的“内相”。将内相滴入外相中得水包油型 (O/W) 初乳。将初乳加入含乳化剂的油相中, 乳化 20 min, 再加入交联剂, 交联一定时间后, 离心, 倾去上层油相, 下层微球分别以醋酸乙酯、无水乙醇、丙酮各洗涤数次, 减压干燥, 得天麻素淀粉微球。

2.1.2 空白淀粉微球 称取 3.5 g 乳化剂 Span 80 于 150 mL 烧杯中, 加入液体石蜡 100 mL, 40 °C 水浴磁力搅拌, 混合均匀, 作为油相。称取 3.5 g 可溶性淀粉, 溶于 10 mL 0.1 g/mL 的 NaOH 溶液静置 30 min 至溶液澄清, 作为水相。在 1 000 r/min 搅拌速率下, 将水相均匀缓慢的加入油相, 制成 W/O 型乳液。乳化 20 min 至乳滴分散均匀, 加入环氧氯丙烷 4 mL, 固化反应 3 h, 倾去油相, 下层微球分别以醋酸乙酯、无水乙醇、丙酮各洗涤数次, 减压干燥, 得空白淀粉微球。

2.2 天麻素淀粉微球中天麻素 HPLC 定量测定方法的建立

2.2.1 天麻素对照品溶液的配制 取天麻素对照品约 12 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 以适量甲醇-水 (1:1) 溶解, 稀释至刻度, 即得天麻素对照品溶液, 4 °C 保存备用。

2.2.2 天麻素淀粉微球溶液的制备 取天麻素淀粉微球约 100 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 用 pH 6.8 的 PBS 配制的淀粉酶溶液 (mg/mL) 溶解,

稀释至刻度, 60 °C 水浴加热, 1 000 r/min 搅拌 1 h。天麻素淀粉微球水解完全, 静置至室温, 甲醇-水 (1:1) 稀释, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得天麻素淀粉微球溶液。

2.2.3 空白淀粉微球溶液的制备 取空白淀粉微球约 100 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 用 pH 6.8 的 PBS 配制的淀粉酶溶液 (mg/mL) 溶解, 稀释至刻度, 60 °C 水浴加热, 1 000 r/min 搅拌 1 h。空白淀粉微球水解完全, 静置至室温, 甲醇-水 (1:1) 稀释, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得空白淀粉微球溶液。

2.2.4 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (3:97); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 220 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

2.2.5 专属性试验 按上述“2.2.1”“2.2.2”“2.2.3”项方法分别配制天麻素对照品溶液、空白淀粉微球溶液和天麻素淀粉微球溶液, 在“2.2.4”项色谱条件下进样测定。天麻素对照品溶液、空白淀粉微球溶液和天麻素淀粉微球溶液的色谱图见图 1, 天麻素峰保留时间约 16.2 min, 在所选择的色谱条件下, 空白淀粉微球不干扰天麻素微球的测定。

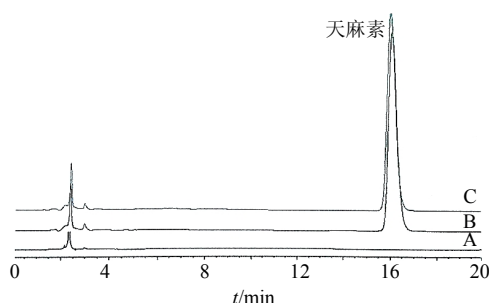


图1 空白淀粉微球 (A)、天麻素对照品 (B) 和天麻素淀粉微球 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of blank starch microspheres (A), gastrodin reference substance (B), and gastrodin starch microspheres (C)

2.2.6 线性关系考察 精密移取一定体积的天麻素对照品储备液, 用甲醇-水 (1:1) 配制一系列天麻素对照品溶液, 质量浓度分别为 0.02、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mg/mL, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 在上述“2.2.4”项色谱条件下进样测定。以天麻素峰面积积分值 (Y) 对天麻素对照品溶液的质量浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=18\ 097 X-31.358$, $r=0.999\ 7$, 结果表明, 天麻素质量浓度在 0.02~0.30 mg/mL 与峰面积呈良

好的线性相关性。

2.2.7 重复性试验 称取天麻素淀粉微球适量, 6 份, 精密称定, 按上述“2.2.2”项方法配制天麻素淀粉微球溶液, 在“2.2.4”项色谱条件下进样测定, 计算微球中天麻素的量及 RSD。结果 RSD 为 1.00%, 重复性符合要求。

2.2.8 加样回收率试验 称取已测定天麻素量的天麻素淀粉微球适量, 共 9 份, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 于每份样品中分别加入一定量的精密称定的天麻素对照品, 按上述“2.2.2”项方法配制高、中、低 (样品中天麻素量的 120%、100%、80%) 3 种质量浓度供试品溶液, 在“2.2.4”项色谱条件下进样测定, 计算回收率及 RSD 值。结果天麻素平均回收率为 98.97%, RSD 为 1.76%, 天麻素淀粉微球的回收率符合要求。

2.3 评价指标

2.3.1 外观形态 取适量干燥的天麻素淀粉微球, 于扫描电镜下观察其外观形态。

2.3.2 粒径及粒径分布 将天麻素淀粉微球均匀分散于纯水中, 滴于载玻片上, 用带标尺的显微镜测定粒径及粒径分布。

2.3.3 载药量和包封率 按“2.2.2”项方法制备天麻素淀粉微球溶液, 在“2.2.4”项色谱条件下进样测定, 求得微球中天麻素的量并计算其载药量和包封率。

$$\text{载药量} = m/M_1$$

$$\text{包封率} = m/M_2$$

m 为微球中天麻素质量, M_1 为天麻素淀粉微球质量, M_2 为天麻素投药量

2.4 天麻素淀粉微球处方与制备工艺单因素考察

2.4.1 药辅比的选择 按“2.1.1”项下制备方法分别制备天麻素与淀粉质量比为 0.2:3.5、0.6:3.5、1.0:3.5、1.5:3.5、2.0:3.5、3.0:3.5 的天麻素淀粉微球, 测定其载药量和包封率, 结果载药量分别为 1.62%、5.00%、7.00%、9.63%、11.4%、14.09%, 包封率分别为 39.65%、46.84%、38.18%、38.49%、29.22%、33.31%。可知, 随着药辅比的增大, 微球的载药量升高, 但包封率整体呈下降趋势。

2.4.2 淀粉质量分数的选择 配制质量分数分别为 25%、35%、45% 的淀粉溶液, 按“2.1.1”项下制备方法分别制备天麻素淀粉微球, 测定其载药量和包封率, 结果载药量分别为 11.51%、11.07%、12.25%, 包封率分别为 32.62%、32.55%、44.54%。可知, 淀

粉质量分数对载药量影响不大,包封率随淀粉质量分数增加而升高。

2.4.3 油水比的选择 按“2.1.1”项下制备方法分别制备油水比为 8:1、10:1、12:1 的天麻素淀粉微球,测定其载药量和包封率,结果载药量分别为 11.72%、11.57%、10.03%,包封率分别为 37.29%、38.74%、33.65%。可知,油水比对载药量和包封率均无显著影响。

2.4.4 乳化剂 Span 80 用量的选择 在 100 mL 油相中分别加入乳化剂 2.5、3.5、4.5 g,配制质量分数为 2.5%、3.5%、4.5% 的 Span 80 溶液。按“2.1.1”项下制备方法分别制备天麻素淀粉微球,测定其载药量和包封率,结果载药量分别为 9.94%、11.32%、8.48%,包封率为 26.59%、35.65%、28.09%。可知,Span 80 的用量为 3.5 g 最好。

2.4.5 交联剂环氧氯丙烷(ECH)用量的选择 按“2.1.1”项下制备方法,每 3.5 g 淀粉中分别加入 4、5、6 mL ECH 制备天麻素淀粉微球,测定其载药量和包封率,结果载药量分别为 11.32%、10.93%、10.50%,包封率为 35.65%、32.36%、33.70%。可知,淀粉为 3.5 g 时,ECH 用量选用 4 mL 较好。

2.4.6 制备温度的选择 分别在 30、40、45、50 °C 条件下制备天麻素淀粉微球,测定微球的载药量和包封率,结果载药量分别为 10.68%、11.32%、10.48%、12.08%,包封率分别为 32.59%、35.65%、35.58%、37.08%。可知,温度对于载药量和包封率的影响并不明显。但 50 °C 时制备的微球呈略焦黄色,所以 40 °C 最适宜。

2.4.7 搅拌速率的选择 分别在 600、1 000、1 400 r/min 搅拌速率下制备天麻素淀粉微球,测定微球的载药量和包封率,结果载药量分别为 9.42%、11.32%、8.72%,包封率分别为 28.76%、35.65%、27.59%。可知,搅拌速率选用 1 000 r/min 最适宜。

2.5 均匀设计法优化天麻素淀粉微球的处方工艺

2.5.1 试验设计及结果 在单因素考察的基础上,选择对天麻素淀粉微球影响最显著的 3 个因素药辅比(X_1)、淀粉质量分数(X_2)、油水比(X_3)为研究对象,以微球平均粒径(Y_1)、载药量(Y_2)、包封率(Y_3)为评价指标。按均匀设计表 $U_8(8^5)$ 进行实验设计,见表 1。

将表 1 的实验结果用 SPSS 19.0 软件处理,分别以 3 个指标进行 2 次多项式逐步回归分析,得回归方程: $Y_1 = 26.186 + 9.052 X_1$, $r = 0.820$, $P = 0.015$;

表 1 处方工艺优化均匀设计表

Table 1 Uniform design of prescription process optimization

水平	X_1	$X_2/\%$	X_3	$Y_1/\mu\text{m}$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$
1	1:9	35	12:1	33.601	2.31	33.01
2	2:9	55	10:1	34.089	5.27	38.22
3	1:3	35	8:1	36.249	8.46	33.59
4	4:9	55	6:1	43.463	9.74	39.30
5	5:9	25	12:1	41.760	12.82	26.94
6	2:3	45	10:1	60.770	14.21	35.31
7	7:9	25	8:1	71.743	17.08	24.45
8	8:9	45	6:1	50.754	21.61	44.44

$Y_2 = -0.052 + 5.107 X_1$, $r = 0.993$, $P = 0.000$; $Y_3 = 16.099 + 0.458 X_2$, $r = 0.865$, $P = 0.009$ 。回归方程结合单因素考察结果,优化后的处方工艺如下:天麻素 2.0 g,淀粉 4.5 g,液体石蜡 100.0 mL,Span 80 用量 3.5 g,ECH 5.1 mL,制备温度 40 °C,搅拌速率 1 000 r/min。

2.5.2 处方验证 根据优化后的处方工艺条件,按“2.1.1”项下制备方法,制备 3 批天麻素淀粉微球,分别测定 3 批微球的平均粒径、载药量和包封率进行处方验证,结果见表 2。结果表明该处方工艺稳定,制备的天麻素淀粉微球符合鼻腔给药的要求。

表 2 天麻素淀粉微球处方验证结果

Table 2 Prescription verification of gastrodin starch microspheres

微球批号	平均粒径/ μm	载药量/%	包封率/%
20140122-2	45.71	9.85	36.78
20140412-2	49.54	9.05	32.04
20140412-3	47.82	10.44	38.34
平均值	47.69 ± 1.92	9.78 ± 0.70	35.72 ± 3.28

2.6 天麻素淀粉微球黏膜黏附力的测定

取蟾蜍 12 只,用探针破坏脊髓后,用大头针将其仰卧固定于蛙板上,止血钳牵拉使口腔张开,上腭黏膜充分暴露。将适量活性炭炭粒(研磨后过 200 目筛)置于两眼窝前缘间的黏膜上,通过黏膜上纤毛的摆动,观察到炭粒逐渐向食管口方向移动,用秒表记录炭粒移动至食道口处(约 1 cm)所需的时间,每只蟾蜍平行测定 6 次,每次测定后,放下止血钳,闭合蟾蜍口腔 10 min,使黏膜湿润恢复,测定结果取均值作为该蟾蜍的黏膜滞留时间,计算基础纤毛清除速率;测定完毕后,用生理盐水冲洗黏

膜表面, 吸干多余的生理盐水, 闭合蟾蜍口腔, 30 min 后, 暴露口腔, 在黏膜上放置载药微球, 同法记录黏膜滞留时间, 计算纤毛的清除速率, 以此来评价微球的黏膜黏附力^[11]。结果发现炭粒组与天麻素淀粉微球组的黏膜滞留时间分别为 (176.92±23.25)、(944.33±68.29) s ($n=12$), 纤毛清除速率分别为 (0.34±0.05)、(0.06±0.01) mm/min ($n=12$)。经理论折算, 天麻素淀粉微球在人体鼻腔内的滞留时间约为 3 h, 无黏附性粉末在人鼻黏膜的滞留时间仅为 20~30 min。天麻素淀粉微球的黏膜滞留时间明显延长, 纤毛的清除速率减小, 天麻素淀粉微球具有良好的黏膜黏附性。

2.7 天麻素淀粉微球体外释药特性的考察

取天麻素原料药约 25 mg 及天麻素淀粉微球约 250 mg, 各 3 份, 精密称定, 分别装于透析袋中, 用 2 mL 生理盐水分散, 透析袋两端扎紧, 系于溶出仪搅拌桨上。溶出杯中加入释放介质生理盐水 100 mL, (37.0±0.1) °C 恒温水浴, 100 r/min 搅拌, 分别在 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0 h 取样 1 mL, 同时补充生理盐水 1 mL, 甲醇-水 (1:1) 稀释后 (天麻素原料药 5 倍稀释, 微球 10 倍稀释), 0.45 μm 有机滤膜滤过, 在“2.2.4”项色谱条件下进样测定。根据随行标准曲线求得每个取样时间点释放介质中天麻素的量, 计算累积释药率 (Q) 并绘制天麻素原料药及天麻素淀粉微球的体外释药曲线, 见图 2。结果显示, 天麻素原料药 30 min Q 达 60% 以上, 2 h 时基本完全释放; 天麻素淀粉微球 2 h 释放 80%, 3 h 释放 90% 以上, 具有一定的缓释作用。

2.8 天麻素淀粉微球体外释药模型拟合

将天麻素淀粉微球的体外释药结果分别用零级

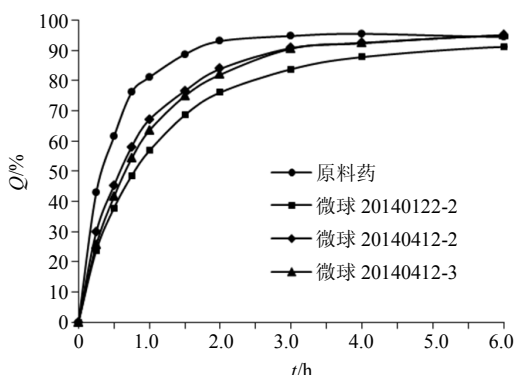


图 2 天麻素原料药及天麻素淀粉微球的体外释放曲线

Fig. 2 Release curves of gastrodin API and gastrodin starch microsphere *in vitro*

释放模型、一级释放模型、Higuchi 模型、Ritger-pappas 模型、Weibull 模型等进行拟合。结果天麻素淀粉微球的体外释放拟合均最接近 Weibull 模型, 见表 3。由 Weibull 方程求得天麻素淀粉微球的 t_{50} (释放 50% 所需时间) 为 40.08 min 及 t_{90} (释放 90% 所需时间) 为 245.73 min。由表中结果可知, 天麻素淀粉微球具有一定的缓释作用, 能满足鼻腔给药要求。

表 3 天麻素淀粉微球体外溶出模型拟合结果

Table 3 *In vitro* dissolution model fitting results of gastrodin starch microsphere

拟合方程	拟合结果	r
零级方程	$Q=0.001\ 5\ t+0.415\ 5$	0.766\ 2
一级方程	$\ln(1-Q)=-0.005\ 9\ t-0.553\ 1$	0.921\ 8
Higuchi 方程	$Q=0.042\ 8\ t^{1/2}+0.196\ 9$	0.914\ 9
Ritger-pappas 方程	$\ln Q=0.354\ 7\ \ln t-2.050\ 5$	0.941\ 2
Weibull 方程	$\ln[-\ln(1-Q)]=0.662\ 1\ \ln t-2.810\ 3$	0.984\ 2

3 讨论

以甲醇-水 (3:97) 为流动相, 分别用甲醇-水 (1:1) 与流动相作溶剂溶解天麻素, HPLC 测定, 比较发现以甲醇-水 (1:1) 为溶剂时, 天麻素峰对称因子好, 且柱效高, 因而确定用其作为天麻素的溶剂。

目前常用的处方优化实验方法有正交设计、均匀设计等, 正交设计因其“整齐可比, 均匀分散”而被广泛应用, 但正交设计仅对已有因素的已有水平进行判断, 只能确定主要因素, 却不能定量地描述因素对指标的影响程度。均匀设计舍弃了正交设计的“整齐可比”的特性, 而让试验点在实验范围内均匀分散, 大大减少了实验次数, 且实验结果可借助计算机处理, 通过回归方程得出理论的最佳实验条件^[12]。所以本实验选用均匀设计法来优化天麻素淀粉微球的处方工艺。

鼻黏膜给药微球的粒径对药物在鼻腔中分布影响较大。当粒径小于 10 μm 时, 微球会随气流进入支气管, 而当粒径很大时, 微球主要分布在外鼻腔非纤毛区, 药物吸收差。因此, 鼻黏膜给药微球的粒径最好在 40~60 μm, 本实验制备的空白淀粉微球平均粒径为 47.69 μm, 符合要求。

鼻黏膜黏附性实验结果显示, 天麻素淀粉微球在蟾蜍黏膜的滞留时间为 944.33 s, 约为无黏附性

粉末滞留时间的 5 倍, 相当于人体鼻腔的滞留时间约为 3 h, 说明天麻素淀粉微球具有良好的黏膜黏附力, 能延长天麻素在鼻腔内的滞留时间。

体外释药特性试验中, 由于释放介质体积较小, 整个释放过程介质的损失对天麻素定量测定造成了较大的影响, 因此在测定过程中进行体积校正以减少实验误差。天麻素原料药 30 min 累积释药达 60% 以上, 2 h 时基本完全释放, 而天麻素淀粉微球 2 h 释放 80%, 3 h 释放 90% 以上, 说明其具有一定的缓释作用。

结合体外释药曲线及体外释药模型拟合结果, 天麻素淀粉微球的释药过程可分为 3 个阶段, 突释阶段: 药物释放非常迅速, 这一阶段释放的主要是吸附在微球表面的药物; 缓慢释放阶段: 微球的分子链被降解, 其中吸附的药物缓慢而均匀地释放; 平衡缓释阶段: 这一阶段, 微球内的药物与微球附近释放介质内的药物达到吸附-解吸平衡, 随着微球附近的药物向介质本体的扩散, 以及微球在介质中的溶胀、解体, 有少量的药物从微球向外释放。

结合天麻素淀粉微球的黏膜黏附性与体外释药实验结果可知, 天麻素淀粉微球在鼻腔滞留 3 h 期间基本释药完全, 有效解决鼻黏膜滞留时间短、释药快等问题, 有望提高天麻素的生物利用度。

参考文献

[1] 龚其海, 石京山, 杨丹莉, 等. 天麻素在中枢神经系统的药理作用及其机制 [J]. 中国新药与临床杂志, 2011,

30(3): 176-179.

- [2] 刘慧兰, 曹克刚, 高永红, 等. 天麻素预防大鼠偏头痛发作的功效评价及其作用机制研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(2): 32-33.
- [3] 乔爱敏, 栗俞程, 刘珍玲, 等. 天麻素对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞氧化应激的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2118-2123.
- [4] 杨 汀, 樊光辉. 天麻素治疗神经系统疾病机制研究进展 [J]. 华南国防医学杂志, 2013, 27(2): 131-132.
- [5] 张乐多, 龚晓健, 胡苗苗, 等. 天麻素抗血管性痴呆作用及其机理 [J]. 中国天然药物, 2008, 6(2): 130-134.
- [6] 蔡 铮, 侯世祥, 杨兆祥, 等. 天麻素鼻用原位凝胶脑靶向性研究 [J]. 四川大学学报, 2008, 39(3): 438-440.
- [7] Cai Z, Song S R, Sun F, *et al.* Formulation and evaluation of *in situ* gelling system for intranasal administration of gastrodin [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011, 12(4): 1102-1109.
- [8] 蔡 铮, 侯世祥, 宋相容, 等. 天麻素离子敏感鼻用原位凝胶体外释药研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7): 760-762.
- [9] 唐 倩, 袁拥华, 谢庆娟. 生物黏附传递系统进展概况 [J]. 现代医药卫生, 2007, 23(23): 3531-3533.
- [10] 罗洁琦, 沙先谊, 方晓玲. 三七总皂苷离子敏感型鼻用原位凝胶的制备 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1299-1304.
- [11] John W. Bioadhesion new possibilities for drug administration [J]. *J Clin Pharmacokinet*, 2001, 40(2): 77-84.
- [12] 马 路, 刘剑刚, 史大卓. 均匀设计在中医药研究中的应用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 278-281.