

石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂的制备及其质量评价

李绍林, 段 启*, 赵珍东, 夏 黎, 刘卫海, 汪小根, 沈小钟

广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520

摘要:目的 以具有抗老年痴呆作用的石菖蒲挥发油为模型药物, 制备石菖蒲挥发油鼻喷微乳。方法 根据石菖蒲挥发油在各溶媒中的溶解度初步确定微乳处方组成, 并通过绘制伪三元相图, 通过比较微乳区域大小、稳定性、载药量等优选最优处方。结果 优选最优处方为石菖蒲挥发油-Cremophor EL-丙三醇-水 (6.25:20.83:10.42:62.5), 平均粒径为 (30.5 ± 0.2) nm, 多分散系数(PDI)为 0.150 ± 0.002 , 黏度 (2.80 ± 0.21) mPa·s; 以 β -细辛醚计, 体外透皮速率为 $(1\ 288.76 \pm 16.20)$ $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, 比石菖蒲挥发油普通乳透皮速率提高了 14 倍; 蟾蜍纤毛毒性实验显示该制剂无显著毒性。结论 所制得的石菖蒲挥发油鼻喷微乳理化性质稳定, 透皮性能好, 对鼻黏膜纤毛毒性低。

关键词: 石菖蒲; 挥发油; 微乳; 伪三元相图; 体外经皮渗透

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)08-1935-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.024

Preparation and quality evaluation of *Acori Tatarinowii Rhizoma*-volatile oil microemulsion

LI Shao-lin, DUAN Qi, ZHAO Zhen-dong, XIA Li, LIU Wei-hai, WANG Xiao-gen, SHEN Xiao-zhong

Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China

Abstract: Objective Taking the volatile oil of *Acori Tatarinowii Rhizoma* with the effect of anti-senile dementia as model drug to prepare *Acori Tatarinowii Rhizoma*-volatile oil microemulsion (AO-ME). **Methods** The composition of microemulsion was preliminarily determined according to the solubility of volatile oil from *Acori Tatarinowii Rhizoma* in various solvents. By drawing pseudo-ternary phase diagram, the optimal microemulsion formulation was selected according to the size of particles and microemulsion region, stability of preparations and drug loading. **Results** The optimal microemulsion formulation was that volatile oil of *Acori Tatarinowii Rhizoma*-Cremophor EL-glycerol-water was 6.25:20.83:10.42:62.5. The average particle size of AO-ME was (30.5 ± 0.2) nm with a polydispersity index of 0.150 ± 0.002 . The viscosity value of AO-ME was (2.80 ± 0.21) mPa·s. *In vitro* transdermal rate of AO-ME was $(1\ 288.76 \pm 16.20)$ $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, measured in β -asarone. Compared with ordinary emulsion, the transdermal rate of AO-ME was increased 14 times. The ciliary toxicity test of toad showed that the preparation had no significant toxicity. **Conclusion** The preparation of AO-ME was prepared with stable physicochemical properties, good transdermal properties, and low toxicity to nasal mucosa cilia.

Key words: *Acori Tatarinowii Rhizoma*; volatile oil; microemulsion; pseudo-ternary phase diagram; *in vitro* transdermal penetration

老年性痴呆症包括阿尔茨海默病 (Alzheimer's Disease, AD)、脑血管性老年痴呆及混合性痴呆, 是继心脏病、肿瘤和卒中之后排在第 4 位的导致死亡的疾病^[1-2]。随着我国老年人口的增多, 其发病率呈上升趋势, 给患者个人、家庭及社会带来了巨大的负担^[3-5]。石菖蒲具有化痰开窍、醒神益智等功效, 临床上广泛应用于癫痫、健忘、老年性痴呆等疑难

病症^[6-7]。药理研究表明, 石菖蒲挥发油是其主要活性部位, 活性成分为 α -、 β -、 γ -细辛醚^[8-10]。石菖蒲挥发油能减轻脑缺血-再灌注时对神经元的损害、抑制神经细胞凋亡等可能是其治疗老年痴呆作用机制^[7,11-12]。目前, 临床使用石菖蒲类制剂多为复方汤剂、片剂、丸剂等传统制剂, 服用剂量大, 存在肠道毒副作用, 药物难以透过血脑屏障, 生物利用度

收稿日期: 2018-12-09

基金项目: 广东省科技计划项目 (2013B021800173); 广东省医学基金项目 (A2016587); 广东省教育厅青年创新人才项目 (2017GKQNCX037)

作者简介: 李绍林 (1983—), 男, 博士, 主要从事中药新药与新技术研究。Tel: (020)28854910 E-mail: lisl@gdyzy.edu.cn

*通信作者 段 启 (1969—), 男, 教授, 主要从事中药制剂与炮制研究。Tel: (020)28854910 E-mail: duanq@gdyzy.edu.cn

低,需对药物进行二次开发^[13]。

鼻喷剂通过鼻腔给药,鼻黏膜微绒毛表面积大、通透性高,可以更好地吸收;鼻腔给药,药物通过嗅神经通路、嗅黏膜上皮通路可直接吸收进入脑组织^[14]。因此,通过鼻腔给药可以使不易透过血脑屏障的药物实现脑靶向性^[15]。

微乳是各项同性的热力学稳定载药系统,对难溶性成分有较好的增溶性,提高药物的稳定性,促进药物透皮吸收,提高药物生物利用度,且制备工艺相对简单,适宜工业化大生产^[16-18]。

本研究将具有保护中枢神经系统和抗老年痴呆作用的石菖蒲药效部位——挥发油制备成鼻喷微乳制剂,并对新制剂的理化性质和体外透皮性能进行考察。解决目前石菖蒲药物稳定性差、肠道毒副作用、难以透过血脑屏障进入大脑中枢神经系统发挥神经治疗作用等问题,提高药物的生物利用度,增强疗效,为临床治疗老年痴呆提供一种新的高效、低毒、安全方便的中药制剂石菖蒲挥发油鼻喷微乳奠定基础;并为微乳作为新型药物载体在中药经鼻腔给药系统的靶向性研究提供实验依据。

1 仪器、试剂与动物

丹东百特 BT-90 纳米激光粒度仪,丹东百特仪器有限公司;Agilent 1200 型高效液相色谱仪,包括四元泵洗脱系统、自动进样器、在线脱气装置、柱温箱及光电二极管矩阵检测器,美国 Agilent 公司;VORTEX 4 涡旋振荡器,上海达姆实业有限公司;DDS-307A 电导率仪,上海仪电科学仪器股份有限公司;G220 透射电子显微镜,荷兰 FEI 公司。

β -细辛醚对照品,广东食品药品职业学院自制,HPLC 峰面积归一化法测得质量分数为 99.21%;石菖蒲,批号 201712130812,购自广州致信药业有限公司,经广东食品药品职业学院梁永枢副主任中药师鉴定为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎;石菖蒲挥发油,广东食品药品职业学院自制,其中 β -细辛醚含量质量分数为 37.33%;聚氧乙烯蓖麻油 (Cremephor EL, CEL)、聚氧乙烯氢化蓖麻油 (Cremephor RH 40, RH40),德国 BASF 公司;烷基酚聚氧乙烯醚 (OP10 乳化剂),广州市德田新材料有限公司;聚乙二醇 200 (PEG200)、PEG400、异丙醇、丙二醇、丙三醇、去氧胆酸钠、无水乙醇均为分析纯,购于广州化学试剂厂;液相用甲醇、乙腈、乙醇为色谱纯,水为重蒸水。

中华大蟾蜍,雄性,体质量 35~40 g,广州中医药大学实验动物中心提供,实验动物许可证号 SCXK (粤) 2013-0020。

2 方法与结果

2.1 石菖蒲挥发油制备

参照文献报道^[19],采用超临界 CO_2 萃取方法(以占萃取物 0.08 mL/g 的乙醇为夹带剂,萃取压力 22.5 MPa,萃取温度 43 $^{\circ}\text{C}$,萃取时间 126 min, CO_2 体积流量 16 L/h,解吸压力 4.0 MPa,解吸温度 25 $^{\circ}\text{C}$)制得石菖蒲挥发油,其中 β -细辛醚质量分数为 37.33%,备用。

2.2 β -细辛醚 HPLC 法定量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈ 柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水 (65:35);柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;体积流量 1.0 mL/min;检测波长 253 nm,进样量 10 μL 。理论塔板数以 β -细辛醚计不少于 3 400。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取 β -细辛醚对照品适量,至棕色量瓶中,加甲醇定容,制成 β -细辛醚质量浓度为 68.27 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 精密吸取 1 mL 石菖蒲挥发油至 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇定容,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取 β -细辛醚对照品溶液 1、5、10、15、20 mL,分别置于 20 mL 量瓶中,加甲醇至刻度摇匀,备用。精密吸取上述对照品溶液各 10 μL ,进样,记录色谱图,测定峰面积,以峰面积 (Y) 对进样量 (X) 进行线性回归,得回归方程 $Y=72\,861.83X-561.70$, $r=0.999\,99$,结果表明 β -细辛醚在 68.27~1 365.40 μg ,峰面积与进样量呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液各 10 μL ,按“2.2.1”项色谱条件,重复进样 6 次。结果 β -细辛醚峰面积的 RSD 为 0.15%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 分别于 0、0.5、1、3、6、12 h 精密吸取 10 μL 供试品溶液进样测定,结果 β -细辛醚峰面积的 RSD 为 1.23%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 分别取 6 份石菖蒲挥发油样品,照“2.2.3”项方法制得 6 份供试品溶液,照“2.2.1”项色谱条件分别进样 10 μL ,结果 β -细辛醚质量分

数的RSD为0.93%，表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密量取已测定 β -细辛醚含量的石菖蒲挥发油共6份，分别加入一定量已知质量浓度的对照品溶液，照“2.2.3”项方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项色谱条件测定 β -细辛醚含量，计算回收率，结果平均回收率为99.81%，RSD为0.75%，表明本方法 β -细辛醚具有较好的加样回收率。

2.2.9 样品定量测定 按“2.2.3”项方法制备供试品溶液，依照“2.2.1”项色谱条件进样，测定 β -细辛醚峰面积，计算出样品中 β -细辛醚的含量。结果样品中 β -细辛醚质量浓度为 $(413.13 \pm 1.57) \mu\text{g/mL}$ ($n=3$)。

2.3 微乳处方的筛选

2.3.1 油相(O)的确定 微乳的油相一般选用较短链($\text{C}_8 \sim \text{C}_{18}$)的油，因为短链油容易嵌入表面活性剂中，易形成界面膜。石菖蒲油主要成分为 α -、 β -、 γ -细辛醚，分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$ ，符合微乳油相要求，且预实验过程中发现，单独选择石菖蒲挥发油作为微乳油相可以形成均一透明的微乳液，且单独选择模型药物作为微乳油相有利于提高药物浓度，提高载药量，因而选择模型药石菖蒲挥发油作为微乳的油相。

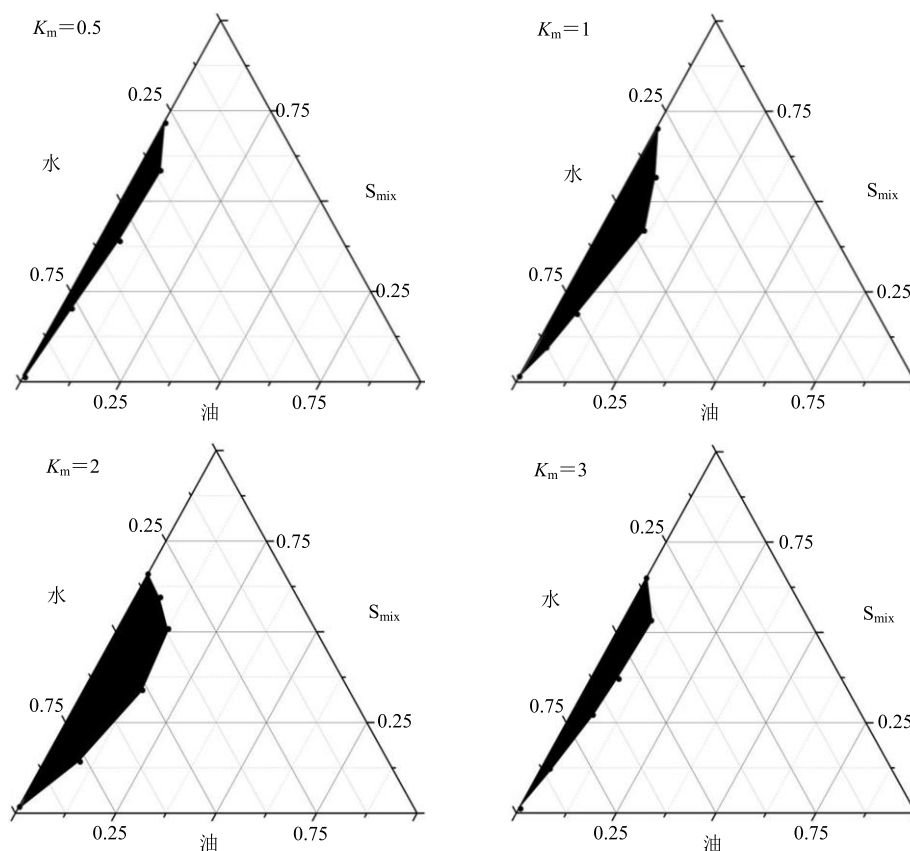
2.3.2 助表面活性剂(COS)的选择 采用指标成分溶解量法，测定石菖蒲挥发油中指标成分 β -细辛醚分别在乙醇、PEG200、PEG400、丙二醇、丙三醇、异丙醇等常用药物辅料COS中的溶解度。分别量取过量的各COS 5 mL，分别加入装有2 mL上述各COS的试管中，振荡摇匀，超声溶解30 min，使COS充分溶解目标成分，3 000 r/min离心5 min，吸取COS层溶液经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过，取续滤液稀释适当倍数，参照“2.2.9”项方法测定各样品溶液中 β -细辛醚的含量，结果石菖蒲挥发油在乙醇、PEG200、PEG400、丙二醇、丙三醇、异丙醇中的溶解度(以 β -细辛醚计)分别为13.61、8.23、5.62、11.87、16.82、9.41 mg/mL。可知 β -细辛醚在丙三醇中的溶解度最大，为保证微乳的载药量，选取对指标成分 β -细辛醚溶解量大的丙三醇为微乳的COS。

2.3.3 表面活性剂(S)的选择 减小S用量，有利于提高制剂的安全性及药物浓度，因而通过考察形成微乳所用最少表面活性剂用量($\text{MS}_{\min}$)筛选微乳S，考虑到O/W型微乳的S亲水/亲油平衡(HBL)值要求，适宜的HBL值为8~18，故初步选取聚山

梨酯80、60及泊洛沙姆407、CEL、RH40为考察对象。将油相-石菖蒲挥发油与丙三醇(COS)-按质量比1:2混合均匀，往该体系中逐滴加入上述各S，混匀，取1滴滴入10 mL水中，观察油/水混合状况，并测定粒径，记录微乳形成时的 $\text{MS}_{\min}$ ，并计算此时S在混合体系中所占质量分数，结果形成石菖蒲挥发油微乳的聚山梨酯80、60及泊洛沙姆407、CEL、RH40的 $\text{MS}_{\min}$ 在系统中所占质量分数分别为72.35%、67.52%、47.56%、33.28%、39.84%。可知以 $\text{MS}_{\min}$ 为评价指标，CEL所加入比例最小，预示在S中，其加入量最少即可形成微乳，乳化能力最强，因此确定微乳S为CEL。

2.3.4 电导率-含水量法绘制伪三元相图 已确定微乳的组分：油相为石菖蒲挥发油，S为CEL，COS为丙三醇，采用电导率-含水量法绘制伪三元相图，确定微乳区域。首先配制不同 K_m 值(S/COS的质量比)的混合表面活性剂(S_{mix})， K_m 值分别为1:2、1:1、2:1、3:1。而后将油相与 S_{mix} 分别按0.5:9.5、1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1的质量比例混合，室温下往混合相中逐滴加水，漩涡混匀，绘制电导率-含水量曲线，同时采用目测法记录体系由澄清变为浑浊或由浑浊变为澄清的临界点各相比例，用Origin Pro 8.5软件绘制伪三元相图，结果见图1。可知 K_m 值由0.5增大到2.0微乳区域(图片涂黑区)逐渐增大，而 K_m 值由2.0增大到3.0微乳区域反而减小，微乳形成的澄清点呈上移趋势。故确定微乳处方的 K_m 值为2.0。

2.3.5 最优微乳处方的确定 根据微乳稳定性要求，一般选取伪三元相图微乳区的中央附近点作为微乳处方。从形成微乳区域最大的 $K_m=2$ 的伪三元相图中央区选取5个点作为微乳处方，每个处方平行配制3份微乳，分别对其电导率、黏度、稳定性、粒径分布进行评价比较，结果见表1。由结果可知，新制备的各处方微乳电导率、黏度相近，无显著差异。与处方5相比，处方1、3、4有极显著差异($P<0.01$)；放置3个月后，处方1、3、4微乳粒径变化小，说明其稳定性较好；处方2微乳粒径变化大，相比前几个处方，说明其稳定性较弱。而处方5出现了浑浊，说明微乳结构膜已破坏。综合考虑药剂安全减少辅料用量，及药物载药量考虑，最终确定最优微乳处方为处方3，即石菖蒲挥发油6.25%，CEL 20.83%，丙三醇 10.42%，水 62.5%。

图 1 不同 K_m 处方微乳伪三元相图Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagram of microemulsion with different K_m prescriptions表 1 处方考察结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Prescription survey results ($\bar{x} \pm s, n=3$)

处方 (O-S _{mix} -W)	电导率/($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	黏度/(mPa·s)	粒径分布/nm	稳定性 (放置 3 个月粒径分布) /nm
1 (6.25 : 32.25 : 61.5)	112.51 ± 0.76	2.90 ± 0.31	$29.8 \pm 0.51^{**}$	30.7 ± 0.36
2 (6.25 : 30.25 : 64.5)	121.47 ± 0.53	2.78 ± 0.24	37.2 ± 0.47	42.6 ± 0.42
3 (6.25 : 31.25 : 62.5)	116.13 ± 0.67	2.81 ± 0.25	$30.2 \pm 0.52^{**}$	31.5 ± 0.31
4 (5.25 : 31.25 : 63.5)	110.34 ± 0.52	2.75 ± 0.22	$29.6 \pm 0.37^{**}$	31.2 ± 0.40
5 (7.25 : 31.25 : 61.5)	120.30 ± 0.71	3.01 ± 0.34	39.7 ± 0.51	出现浑浊, 平均粒径大于 100 nm

与处方 5 比较: $^{**}P < 0.01$ $^{**}P < 0.01$ vs prescription 5

2.3.6 石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂制备工艺验证 称取 CEL 20.84 g, 丙三醇 10.41 g, 将两者充分混合均匀, 而后往混合项中逐滴加入 6.25 g 石菖蒲挥发油, 边加边搅拌, 待充分混匀后, 再往混合项中逐滴滴加蒸馏水 62.5 g, 边加边搅拌, 直至搅拌形成透明均一的微乳系统, 经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜滤过, 分装至 5 mL 聚乙烯塑料瓶中, 即得石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂。平行重复 3 批。均制得澄清、均一、透明橙黄色微乳, 表面有乳光, 与筛选的最优微乳处方一致, 可重复性良好。

2.4 石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂性质考察

2.4.1 石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂的相关理化性质 根据最优处方制备的石菖蒲挥发油鼻喷微乳为均一透明澄清, 有橙色乳光, 流动性良好, 黏度 (2.80 ± 0.21) mPa·s ($n=3$); pH 值为 6.31 ± 0.01 ($n=3$), 电导率为 (115.60 ± 0.41) $\mu\text{S}/\text{cm}$ ($n=3$)。

2.4.2 粒径及分布 取 3 批自制的石菖蒲挥发油鼻喷微乳, 稀释约 10 倍后测定其粒径。结果 (图 2) 显示, 3 批样品的平均粒径为 (30.5 ± 0.2) nm, 呈正态分布, 多分散系数 (PDI) 为 0.150 ± 0.002 。

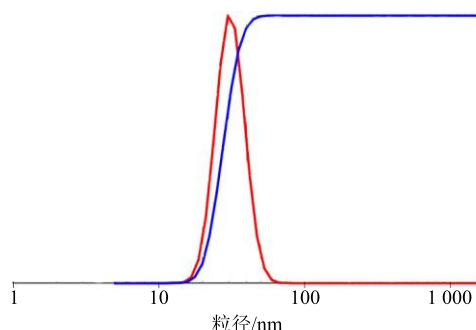


图 2 微乳粒径分布 ($n=3$)

Fig. 2 Particle size distribution of microemulsion ($n=3$)

2.4.3 形态观察 采用电子显微镜,对石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂的粒径进行考察。将石菖蒲挥发油鼻喷微乳进行适当稀释,对稀释样品进行染色制片。将载有支持膜的铜网置于蜡板上,在膜上滴加复方湿疹微乳凝胶稀释液一滴,自然晾干 20 min。再滴加 2%磷钨酸 1 滴,自然晾干 10 min,用滤纸吸走多余的液体,置于透射电子显微镜下观察,照相,见图 3。由透射电镜照片显示,微乳乳滴为圆球形,外观圆整,大小均在 100 nm 内。

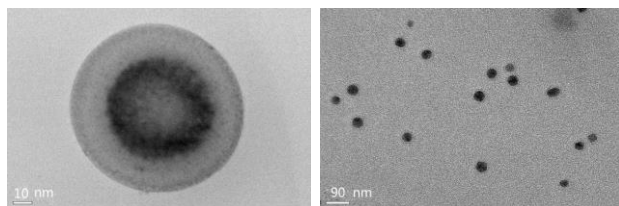


图 3 石菖蒲挥发油微乳形态

Fig. 3 AO-ME microemulsion form

2.4.4 透皮性能考察 配制相同药物浓度(石菖蒲挥发油质量分数 6.25%)的石菖蒲挥发油微乳与普通乳(石菖蒲挥发油-OP10 乳化剂-水 6.25:31.25:62.5)进行体外透皮性能考察。取石菖蒲挥发油微乳和普通乳液各 5 mL,分别加入 Franz 扩散池,渗透膜为小鼠腹部脱毛全皮,所用鼠皮的厚度均一,有效扩散面积为 4.50 cm²,接收池体积为 18 mL,接收介质为生理盐水,于 32 ℃、200 r/min 实验,以石菖蒲挥发油中的 β -细辛醚为考察指标,分别于 1、2、4、6、8、10、12 h 抽取 5 mL 接收液(同时补加 5 mL 空白接收液),过 0.45 μ m 微孔,参照“2.2”项下方法,测定接收液中 β -细辛醚含量,以上实验,石菖蒲挥发油微乳和普通乳分别平行做 5 组,取均值,绘制渗透曲线,拟合参数,得药物体外经皮渗透动力学曲线方程见表 2,通过比较体外经皮渗透动力学参数稳态透皮速率(J_s)和单位面积累积渗透量(Q_n),可以看出石菖蒲挥发油微乳较石菖蒲挥发油普通乳液透皮速率提升了 14 倍,透皮性能得到显著提升。

$$Q_n = C_n / A$$

$$J_s = dQ/dt$$

$$C_n = C_{ni} + V_0 / V \sum_{i=1}^{n-1} C_{ps}$$

Q 为药物的累积渗透量, C_n 为 t 时间药物的校正质量浓度, C_{ni} 为 t 时间药物的实测质量浓度, C_{ps} 为 t 时前药物的实测质量浓度, V_0 为每次取样体积, V 为接收液的总体积, Q_n 为 t 时间单位面积累积渗透量, A 有效扩散面积

表 2 微乳与普通乳液体外经皮渗透动力学参数 ($n=5$)

Table 2 Kinetic parameters of percutaneous osmosis of microemulsion and ordinary emulsion *in vitro* ($n=5$)

样品	动力学方程	r	$J_s/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$Q_{12}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$
微乳	$Y=1\,288.76\,X-19.08$	0.998	$1\,288.76\pm 16.20$	$15\,446.04\pm 43.45$
普通乳	$Y=85.92\,X-12.76$	0.997	85.92 ± 8.21	295.21 ± 21.52

2.4.5 石菖蒲挥发油微乳对蟾蜍鼻黏膜纤毛的影响 采用在体法考察鼻黏膜纤毛毒性^[20]。选取 18 只蟾蜍,随机分成 3 组(每组 6 只),其中以生理盐水喷鼻的为阴性对照组,以 1%去氧胆酸钠溶液喷鼻的为阳性对照组,以石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂喷鼻的为微乳组。将蟾蜍仰卧固定,分别往上颌黏膜滴加生理盐水、1%去氧胆酸钠溶液、石菖蒲挥发油微乳 0.5 mL,使完全浸没上颌。30 min 后用生理盐水清洗药物,分离出大小约为 5 mm×5 mm 的蟾蜍上颌黏膜,用生理盐水洗净,将黏膜朝上平铺于载玻片

上,用生理盐水润湿,盖上盖玻片,光学显微镜下(10×40 倍)观察纤毛运动情况。再将载玻片室温放置于加有少量生理盐水的密闭容器内,每隔 20 min 取出,显微镜下观察,并记录各组内每片蟾蜍黏膜纤毛持续运动时间,计算平均值,计算纤毛持续运动时间的百分比,即给药组平均纤毛运动时间与阴性对照组的纤毛运动时间之比,结果见表 3。一般以纤毛持续运动时间百分比大于 85%为制剂的安全阈值^[21],本实验中阳性对照组纤毛持续运动时间百分比为 5.50%,有明显的纤毛毒性;与阴性对

表 3 石菖蒲挥发油微乳对蟾蜍鼻黏膜纤毛的影响 ($n=6$)
Table 3 Effect of AO-ME microemulsion on nasal mucosa cilia of toad ($n=6$)

组别	纤毛持续运动 时间/min	纤毛运动时间 百分比/%
阴性对照	363.33±15.06	100.00
阳性对照	20**	5.50
石菖蒲挥发油微乳	340.00±17.89	93.58

与阴性对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs negative control group

照组相比,石菖蒲挥发油微乳组平均纤毛持续运动时间无显著性差异,纤毛运动时间百分比为 93.58%,表明石菖蒲挥发油微乳对鼻黏膜纤毛运动基本无影响,没有显著毒性,具有较好的鼻腔给药安全性。

3 讨论

微乳一般选用较短链($C_8\sim C_{18}$)的油作为油相,因为短链油容易嵌入 S 与 COS 形成的界面膜中^[22]。石菖蒲挥发油主要成分为 α -、 β -、 γ -细辛醚,分子式为 $C_{12}H_{16}O_3$,符合微乳油相的要求。且预试验中,单独选择石菖蒲挥发油作为微乳油相也可以成功形成微乳,可以减少辅料用量,提高载药量,因而选作微乳油相,并对微乳处方做进一步优化考察。

为保证药物的载药量,在选择微乳 S 与 COS 的筛选辅料时,都首先考虑了微乳辅料对药物的表观溶解度,选择对石菖蒲挥发油(以 β -细辛醚为考察指标)溶解性好的辅料。再结合伪三元相图的绘制,通过比较形成微乳区域的大小,确立 S_{mix} 比例,在考察 S 与 COS 的比例(K_m 值)过程中发现: K_m 值由 0.5 增大到 2.0 微乳区域逐渐增大,这主要是因为 S 的比例增大, S 在油/水界面膜具有柔嫩性,减少微乳形成界面膜张力,乳化能力增强,形成更大的微乳区域。而 K_m 值由 2.0 增大到 3.0 微乳区域反而减小,这可能是由于 S 增加到一定值后,体系黏稠度增加,凝胶区、双连续型区域扩大,缩小了微乳(O/W)形成的区域。且随着 K_m 的增大,微乳形成的澄清点呈上移趋势。

在伪三元相图中,位于微乳区中央的微乳处方,受微乳各相变化幅度更宽,因而具有更好地稳定性,通过选取位于微乳区域中央的 5 个微乳处方,通过比较形成微乳的电导率、黏度、粒径、稳定性发现:微乳油相比例的升高,微乳稳定性下降;在微乳区域里,相图条件下, S 的比例越高,其微乳的稳定

性越好,综合考虑微乳稳定性与载药量筛选出最优微乳处方。

本实验制得最优石菖蒲挥发油鼻喷微乳,均一、透明、澄清有光泽,平均粒径为 (30.5 ± 0.2) nm,稳定性好,与同等药物浓度的石菖蒲挥发油普通乳相比,体外透皮性能提高了 14 倍,且采用经鼻给药(透过黏膜),避免了石菖蒲现有口服给药存在肠道毒副作用、肝脏首过效应,吸收率低,为临床治疗老年痴呆提供一种新的高效、低毒、安全方便的中药制剂石菖蒲挥发油鼻喷微乳奠定基础。

参考文献

- [1] 纪勇. 阿尔茨海默病 200 年 [J]. 中国现代神经疾病杂志, 2014, 14(3): 156-160.
- [2] 尹芳, 宋祯彦, 李富周, 等. 基于网络药理学研究当归芍药散防治阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(2): 210-215.
- [3] 柯淑芬, 李红. 老年痴呆照护机构生活环境评估量表的研究进展 [J]. 中华护理杂志, 2014, 49(2): 211-215.
- [4] 宋祯彦, 陈易璇, 余婧萍, 等. 钩藤散活性成分治疗阿尔茨海默病作用机制的网络药理学分析 [J]. 中草药, 2018, 49(24): 5854-5864.
- [5] 万素馨, 方伟. 阿尔茨海默病的治疗药物作用机制研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(12): 3406-3410.
- [6] 张璐, 李焕娟, 朱乃亮, 等. 基于药物体系质量评价模式的石菖蒲质量表征关联分析研究 [J]. 环球中医药, 2015, 8(3): 274-280.
- [7] 卢成淑, 冯宁, 南国, 等. 石菖蒲及其活性成分防治阿尔茨海默病的研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(7): 1236-1242.
- [8] 都姣娇, 杜安妮. 固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析石菖蒲中挥发油成分 [J]. 中成药, 2014, 36(12): 2645-2648.
- [9] 陈小露, 袁德俊, 吴雪茹, 等. 两个产地石菖蒲挥发油质量比较研究 [J]. 中药材, 2015, 38(4): 770-773.
- [10] 王月亮, 陈凯, 李慧, 等. 石菖蒲无溶剂微波提取工艺的优化研究及其挥发性成分的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2016, 47(3): 414-419.
- [11] 庞晓丛, 王喆, 方坚松, 等. 治疗阿尔茨海默病的中药有效成分的网络药理学研究 [J]. 药学报, 2016, 51(5): 725-731.
- [12] 张智华, 王秀莲, 吴建红, 等. 石菖蒲-远志药对不同组分对 AD 模型大鼠学习记忆和海马突触蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 120-124.

- [13] 谢红英. 石菖蒲杀虫活性、有效成分分离和制剂开发初步研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2004.
- [14] 吴 慧, 吴闻哲. 经鼻给药增加药物脑靶向的制剂方法 [J]. 世界临床药物, 2015, 36(1): 50-55.
- [15] 刘建春, 杨婉芳, 季新燕, 等. 中药鼻腔给药的脑靶向性探讨 [J]. 中医杂志, 2014, 55(15): 1284-1287.
- [16] 傅荣萍, 刘玉萍, 张毕桥, 等. 大蒜素二烯丙基三硫醚微乳的制备及其对肿瘤细胞增殖与迁移的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(23): 5541-5547.
- [17] 康荣荣, 杨苏芳, 韩 萌, 等. 微乳在经皮给药系统中的应用 [J]. 中南药学, 2014, 55(3): 253-258.
- [18] 刘 伟, 张莹莹, 周文杰, 等. 复方彻清膏微乳的制备及稳定性研究 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3252-3260.
- [19] 李绍林, 王光明, 颜仁梁, 等. 石菖蒲挥发油 SFE-CO₂ 萃取工艺的优化 [J]. 中成药, 2017, 39(7): 1518-1521.
- [20] 谷福根, 张 媛, 王 毅, 等. 盐酸文拉法辛鼻喷剂在大鼠体内的药动学研究及对鼻黏膜纤毛毒性的评价 [J]. 华西药学杂志, 2018, 33(3): 287-290.
- [21] 李新方, 李现贵, 马志强, 等. 薄荷脑鼻腔原位凝胶剂的制备及安全性研究 [J]. 药学实践杂志, 2017, 35(4): 321-324.
- [22] 王章姐, 胡容峰, 王国凯, 等. Box-Behnken 设计-效应面法优化柚皮素自微乳给药系统 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2461-2466.