

葛根素-壳聚糖修饰 β -环糊精鼻用超分子凝胶的制备及抗偏头痛药效评价

宗时宇^{1,2}, 王 苗³, 马鑫宇⁴, 刘 烁⁴, 任 佳⁴, 程云龙^{1,2}, 王春柳^{1,2*}

1. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003

2. 陕西省中医药研究院 中药新型给药重点研究室, 陕西 西安 710003

3. 西安大兴医院, 陕西 西安 710082

4. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

摘要: **目的** 基于壳聚糖修饰 β -环糊精制备载葛根素超分子凝胶 (puerarin-loaded chitosan-modified β -cyclodextrin supramolecular gel, Pur@CS- β -CD Gel), 优化其处方并评价其鼻腔给药及抗偏头痛效果。**方法** 采用单因素与 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 Pur@CS- β -CD Gel 处方, 表征其微观结构、pH 值、稳定性及体外释放行为。建立慢性偏头痛大鼠模型, 通过行为学指标及脑内降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP)、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 水平评价药效。**结果** 最优处方为 CS- β -CD 与羧甲基纤维素钠质量比 1:9、总质量分数 2.6%、葛根素 40 mg。所得 Pur@CS- β -CD Gel 呈三维多孔结构, pH 值 6.5, 稳定性良好, 体外释放呈现 4 h 累积释放 82.75% 的快速释放与后续缓释特征, 无明显鼻黏膜刺激性。药效实验显示, Pur@CS- β -CD Gel 能显著改善偏头痛大鼠行为学表现, 降低脑内 CGRP 和 IL-1 β 水平, 提升 5-HT 含量。**结论** Pur@CS- β -CD Gel 制备工艺可行, 具备良好的鼻腔给药特性及抗偏头痛效果, 为鼻腔递药系统及偏头痛治疗提供了实验依据。

关键词: 葛根素; 超分子凝胶; 工艺优化; 鼻腔给药; 慢性偏头痛; 药效评价

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)16-6320-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.009

Preparation and anti-migraine pharmacodynamic evaluation of puerarin-loaded chitosan-modified β -cyclodextrin nasal supramolecular gel

ZONG Shiyu^{1,2}, WANG Miao³, MA Xinyu⁴, LIU Shuo⁴, REN Jia⁴, CHENG Yunlong^{1,2}, WANG Chunliu^{1,2}

1. Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

2. Key Laboratory of TCM Drug Delivery, Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

3. Xi'an Daxing Hospital, Xi'an 710082, China

4. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To develop a puerarin-loaded supramolecular gel based on chitosan-modified β -cyclodextrin (Pur@CS- β -CD Gel), optimize its formulation, and evaluate its potential for nasal delivery and anti-migraine efficacy. **Methods** The Pur@CS- β -CD Gel formulation was optimized using single-factor experiments and Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM). The optimized Pur@CS- β -CD Gel was characterized for its microstructure, pH value, stability, and *in vitro* release profile. A chronic migraine rat model was established. The therapeutic efficacy was assessed through behavioral indicators and by measuring the levels of calcitonin gene-related peptide (CGRP), 5-hydroxytryptamine (5-HT), and interleukin-1 β (IL-1 β) in brain tissue. **Results** The optimal formulation consisted of CS- β -CD and sodium carboxymethylcellulose at a mass ratio of 1:9, a total polymer concentration of 2.6%, and 40 mg of puerarin. The resulting Pur@CS- β -CD Gel exhibited a three-dimensional porous structure, a pH of 6.5, good stability, and a biphasic *in vitro* release profile characterized by an initial rapid release (82.75% within 4 h) followed by sustained release, with

收稿日期: 2026-02-24

基金项目: 陕西省重点研发计划一般项目 (2024SF-YBXM-530); 陕西省科学技术协会青年人才托举计划 (20250355); 陕西省中医药管理局科研项目 (SZY-KJCYC-2025-ZY-009); 陕西省中医药研究院 (陕西省中医医院) 院级“苗圃培育计划” (2025-18)

作者简介: 宗时宇, 女, 助理研究员, 主要从事中药药效物质基础与新型给药系统研究。E-mail: zongsy114@163.com

*通信作者: 王春柳, 女, 副研究员, 主要从事中药新型给药系统研究。E-mail: chunliu0324@163.com

no obvious nasal-mucosal irritation. Pharmacodynamic studies demonstrated that Pur@CS- β -CD Gel significantly improved migraine-related behavioral performance in rats, reduced CGRP and IL-1 β levels, and increased 5-HT content in the brain. **Conclusion** The Pur@CS- β -CD Gel demonstrates a feasible preparation process, favorable properties for nasal administration, and effective anti-migraine activity, providing an experimental basis for the development of novel nasal delivery systems and migraine therapies.

Key words: puerarin; supramolecular gel; process optimization; nasal administration; chronic migraine; pharmacodynamic evaluation

偏头痛作为一种常见的慢性神经血管性疾病,严重影响患者生活质量。目前临床治疗药物存在口服生物利用度低、血脑屏障透过率有限、系统不良反应较多等问题,亟需开发高效、低毒的新型递药系统^[1]。鼻腔给药因其非侵入性、可避免肝首过效应以及能够实现药物直达中枢等优势,已成为中枢神经系统疾病治疗的重要策略^[2-3]。然而,普通鼻用液体制剂存在鼻腔滞留时间短、清除迅速等问题,制约了其疗效。凝胶制剂能够延长药物在鼻腔的滞留与释放时间,是一种理想的鼻腔给药载体^[4-5]。葛根素作为葛根的主要活性成分,具有扩张血管、抗氧化、抗炎及神经保护等多重药理作用,可通过抑制降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)释放、调控三叉神经血管系统等机制发挥抗偏头痛效应^[6]。

然而,其水溶性差、口服生物利用度低的药动学缺陷严重制约了临床应用^[7]。近年来,中药单体(如川芎嗪、黄芩苷等)经鼻腔给药治疗中枢神经系统疾病已被证实可行^[8-9],其关键在于借助功能性载体提升溶解度与鼻黏膜渗透性。壳聚糖修饰 β -环糊精(chitosan-modified β -cyclodextrin, CS- β -CD)是通过化学交联法将 β -环糊精共价接枝于壳聚糖链上制得的功能化超分子载体,可显著提高葛根素的溶解度并延长鼻腔滞留时间^[10-11]。羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethylcellulose, CMC-Na)作为一种亲水性阴离子多糖衍生物,具备良好的生物相容性、黏膜黏附性与增稠能力,可作为凝胶骨架材料,与 CS- β -CD 通过非共价相互作用构建稳定的三维超分子网络,从而调节凝胶的流变学性质、延长制剂在鼻腔的滞留时间,并实现药物的可控释放^[12]。结合鼻腔给药直接实现脑内递送的优势,该体系有望在较低剂量下达到有效治疗浓度。因此,葛根素虽为中药单体,但通过合理的超分子载体与鼻-脑通路策略,适合开发为经鼻给药剂剂。本研究旨在构建用于鼻腔给药的葛根素-壳聚糖修饰 β -环糊精超分子凝胶(puerarin-loaded chitosan-modified β -cyclodextrin supramolecular gel, Pur@CS- β -CD Gel),通过单因素考察与 Box-Behnken 设计-响应面法(Box-

Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM)优化处方工艺,并系统评价其理化性质、体外释药行为、鼻黏膜安全性及对硝酸甘油诱导的偏头痛模型大鼠的药效学作用,以期为葛根素的鼻-脑递送及其在偏头痛治疗中的应用提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

MCR302 型模块化紧凑型流变仪,安东帕(上海)商贸有限公司;UV-2910 型紫外可见分光光度计,日立(中国)有限公司;FE28 型 pH 计,瑞士梅特勒-托利多公司;HJ-6B 型数显多头磁力恒温搅拌器,常州市万丰仪器制造有限公司;RLPHR 1-2 LD plus 型冷冻干燥机,北京博励行仪器有限公司;TL2010S 型中通量组织研磨仪,北京鼎昊源科技有限公司;ZS-MV 型便携式麻醉机,北京众实迪创科技发展有限公司;Multiskan Sky 型全波长酶标仪,美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 药物与试剂

CS- β -CD,批号 RF0240132,壳聚糖相对分子质量 2 000,西安瑞禧生物科技有限公司;CMC-Na,质量分数>99.0%,国药集团化学试剂有限公司;硝酸甘油注射液,批号 20240417,北京益民制药有限公司;葛根素对照品(批号 CHB201203)和葛根素原料药(批号 CHB201203)购自成都克洛玛生物科技有限公司,质量分数均>98.0%;大鼠 CGRP(批号 ER0832)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT,批号 ER1463)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β ,批号 ER1094)试剂盒均购自武汉菲恩生物科技有限公司;水为超纯水,由 Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)制备;其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体质量为(200 $\pm$ 20)g,购自成都达硕实验动物有限公司,许可证号 SCXK(川)2020-0030。动物于温度(22 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C、相对湿度(60 $\pm$ 5)%、自然昼夜节律的环境下饲养,自由饮水和饮食。所有动物实验均经陕西省中医药研究院实验动物伦理委员会批准,批准号为 2025-18。

2 方法与结果

2.1 Pur@CS-β-CD Gel 的制备

称取处方量的 CS-β-CD, 溶于适量纯水中, 另称取处方量的 CMC-Na 分散于适量纯水中, 于 4 °C 溶胀过夜。将葛根素加入 CS-β-CD 水溶液中, 超声 (200 W, 10 min) 助溶至形成澄清溶液, 再与 CMC-Na 溶胀液混合, 置于磁力搅拌器上, 以 350 r/min 搅拌至形成透明、具有一定黏度的均一体系, 即得 Pur@CS-β-CD Gel。

2.2 葛根素的含量测定

2.2.1 溶液的配制

(1) 对照品溶液的配制: 精密称取葛根素对照品 10 mg 置于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 混匀, 制得质量浓度为 100 μg/mL 的葛根素对照品储备液。取葛根素对照品储备液, 用甲醇逐级稀释至质量浓度分别为 0.1、0.2、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/mL 的系列葛根素对照品溶液, 即得。

(2) 空白载体溶液的配制: 精密称取 CS-β-CD 和 CMC-Na 共 10 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 混匀, 即得空白载体溶液。

(3) 供试品溶液的配制: 精密称取 Pur@CS-β-CD Gel 0.1 g, 在 37 °C 水浴搅拌下加入纯水使分散, 5 000×g 离心 20 min, 取上清, 用适量甲醇溶解稀释, 混匀, 即得供试品溶液。

2.2.2 检测波长的选择 使用紫外-可见分光光度计, 以甲醇作为空白对照, 分别将 10 μg/mL 的葛根素对照品溶液和空白载体溶液, 于 200~400 nm 进行光谱扫描。结果如图 1 所示, 葛根素在 250 nm 处有最大吸收峰, 且空白载体 CS-β-CD/CMC-Na 对葛根素的测定无干扰, 故选择检测波长为 250 nm。

2.2.3 线性关系考察 分别吸取葛根素系列对照品溶液, 在 250 nm 处测定吸光度 (A) 值。以葛根素质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y) 进行线

性回归, 得回归方程为 $Y=0.0659X-0.0217$, $r=0.9993$, 结果表明葛根素在 0.1~20.0 μg/mL 线性关系良好。

2.2.4 精密度试验 吸取低、中、高 3 个质量浓度 (0.2、1.0、5.0 μg/mL) 的葛根素对照品溶液, 连续测定 6 次, 其 A 值的 RSD 分别为 0.40%、0.32%、0.44%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取供试品溶液, 于室温条件下储存, 分别在制备后 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定 A 值, 计算其 RSD 为 0.23%, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.6 重复性试验 按照“2.2.1 (3)”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 测定 A 值并计算葛根素的质量分数。结果显示其 RSD 为 0.44%, 结果表明该方法重复性良好。

2.3 Pur@CS-β-CD Gel 处方单因素考察

2.3.1 CS-β-CD 与 CMC-Na 质量比的影响 在体系总质量与水相总体积保持不变的条件下, 固定 CS-β-CD 与 CMC-Na 的水相比比例为 1:2, CS-β-CD 质量设定为 20 mg。通过系统调整 CMC-Na 的质量 (80、130、180、230、280 mg), 使二者质量比分别为 1:4、2:13、1:9、2:23、1:14。以凝胶形成时间与流动性作为评价指标, 考察对比对凝胶性能的影响, 其中流动性采用倒置法 (倒置 30 s) 评价, 按流动程度分为 5 级 (图 2): 稀 (迅速流至瓶底)、较稀 (较快流至瓶底)、适中 (缓慢下滑, 未至瓶底但超过瓶身长度的 1/2)、较黏稠 (极缓慢下滑, 不足瓶身长度的 1/2)、黏稠 (完全不流动)。结果如表 1 所示, 当 CS-β-CD 与 CMC-Na 质量比为 1:9 时, 凝胶形成时间最短, 且凝胶表现出适中的流动性。

2.3.2 CS-β-CD/CMC-Na 总质量分数的影响 固定体系总质量及 CS-β-CD/CMC-Na 的水相比比例 (1:2),

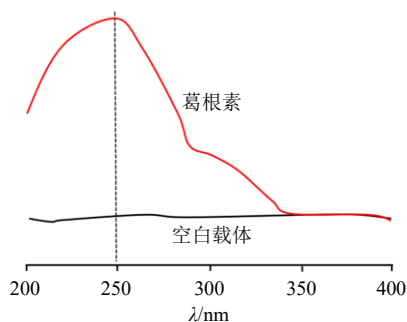


图 1 紫外波长扫描图谱

Fig. 1 UV wavelength scanning spectrum

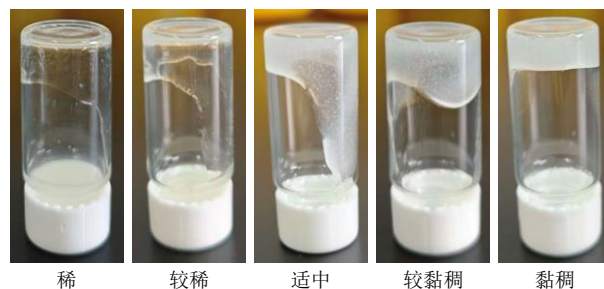


图 2 倒置法评价 CS-β-CD Gel 的流动性

Fig. 2 Evaluation of fluidity of CS-β-CD Gel by inversion method

表 1 CS-β-CD 与 CMC-Na 质量比的影响

Table 1 Effects of mass ratio of CS-β-CD to CMC-Na

CS-β-CD 与 CMC-Na 质量比	成胶时间/min	流动性
1 : 4	35	稀
2 : 13	47	较稀
1 : 9	18	适中
2 : 23	25	较黏稠
1 : 14	20	较黏稠

改变二者在体系中的总质量分数 (0.6%、1.6%、2.6%、3.6%、4.6%), 以凝胶形成时间与流动性为评价指标, 考察总质量分数对凝胶性能的影响。流动性通过倒置法评价。结果如表 2 所示, 当 CS-β-CD/CMC-Na 总质量分数为 2.6% 时, 凝胶形成时间最短, 且凝胶流动性适中。

表 2 CS-β-CD/CMC-Na 总质量分数的影响

Table 2 Effects of total mass fraction of CS-β-CD/CMC-Na

CS-β-CD/CMC-Na 总质量分数/%	成胶时间/min	流动性
0.6	32	稀
1.6	8	较稀
2.6	4	适中
3.6	9	较黏稠
4.6	13	较黏稠

表 4 BBD-RSM 试验因素与水平、试验设计与结果

Table 4 Experimental factors and levels, experimental design and results of BBD-RSM

试验号	X_1	$X_2/\%$	X_3/mg	黏度/(mPa·s)	是否成胶	流动性	试验号	X_1	$X_2/\%$	X_3/mg	黏度/(mPa·s)	是否成胶	流动性
1	1 : 4 (+1)	0.6 (-1)	40 (0)	277.60	否	稀	10	1 : 9	0.6	45	162.62	否	稀
2	1 : 4	2.6 (0)	35 (-1)	12 300.00	是	较稀	11	1 : 14	2.6	45	20 500.00	是	适中
3	1 : 9 (0)	2.6	40	45 600.00	是	适中	12	1 : 9	2.6	40	16 800.00	是	适中
4	1 : 9	2.6	40	62 300.00	是	适中	13	1 : 14	2.6	35	20 100.00	是	较稀
5	1 : 9	4.6 (+1)	45 (+1)	155 000.00	是	黏稠	14	1 : 9	2.6	40	66 500.00	是	适中
6	1 : 4	2.6	45	35 800.00	是	较稀	15	1 : 14	4.6	40	161 000.00	是	黏稠
7	1 : 14 (-1)	0.6	40	195.27	否	稀	16	1 : 9	0.6	35	173.27	否	稀
8	1 : 9	4.6	35	153 000.00	是	黏稠	17	1 : 9	2.6	40	21 800.00	否	稀
9	1 : 4	4.6	40	104 000.00	是	黏稠							

示, 凝胶的物理状态与其表观黏度具有明显关联: 状态较稀的处方黏度较低, 体系均匀性较差, 且在剪切速率增加时出现剪切稀化现象; 状态黏稠的处方则具有较高黏度, 体系均匀, 同样表现出剪切稀化行为。采用 Design-Expert 8.0 软件, 以黏度为响应值 (Y), 对 3 因素进行 2 次多项式模型拟合, 并对模型进行方差分析, 结果如表 5 所示, 2 次模型拟合效果显著 ($P < 0.05$), 失拟项 $P > 0.05$, 表明该模型选择合理。所得拟合方程为 $Y = 42\ 600.00 - 6\ 177.21 X_1 + 71\ 523.91 X_2 + 3\ 236.17 X_3 - 14\ 270.58$

2.3.3 反应温度的影响 分别在 20、25、30 °C 下制备凝胶, 以考察温度对凝胶形成过程及其物理性质的影响。仍以凝胶形成时间与流动性作为评价指标, 其中流动性采用倒置法测试。结果如表 3 所示, 在 25 °C 条件下凝胶形成时间最短, 而温度变化对凝胶流动性未产生显著影响。

表 3 反应温度的影响

Table 3 Effect of reaction temperature

反应温度/°C	成胶时间/min	流动性
20	9	适中
25	5	适中
30	8	适中

2.4 Pur@CS-β-CD Gel 处方 BBD-RSM 优化

基于上述单因素试验结果, 采用 BBD-RSM 设计进行 3 因素 3 水平的处方优化。在室温条件下, 以 CS-β-CD 与 CMC-Na 的质量比 (X_1)、CS-β-CD/CMC-Na 总质量分数 (X_2) 及葛根素质量 (X_3) 为影响因素, 以凝胶黏度为主要指标, 同时结合凝胶形成情况与流动性作为辅助评价指标, 系统优化 Pur@CS-β-CD Gel 处方。各因素与水平设计见表 4。依据 BBD-RSM 设计完成 17 组实验, 结果如表 4 所

$X_1 X_2 - 5\ 775.00 X_1 X_3 + 502.66 X_2 X_3 - 15\ 570.38 X_1^2 + 39\ 338.60 X_2^2 - 4\ 854.62 X_3^2$, $R^2 = 0.945\ 2$, 说明该模型能较好地反映各因素与响应值之间的关系, 实验方法可靠。各因素交互作用的三维响应面图见图 3。

基于拟合方程进行处方优化预测, 确定最优制备条件为 CS-β-CD 与 CMC-Na 质量比 1 : 9, CS-β-CD/CMC-Na 总占比 2.6%, 葛根素加入量 40 mg。按此条件, 确定最终处方及制备工艺如下: 取 CMC-Na 90 mg, 加入 2.50 mL 纯水, 溶胀过夜; 另取 CS-β-CD 10 mg, 加入 1.25 mL 纯水, 搅拌溶解。将葛

表 5 方差分析结果

Table 5 Analysis of variance results

误差来源	平方和	自由度	均值	F 值	P 值	误差来源	平方和	自由度	均值	F 值	P 值
模型	4.960×10^{10}	9	5.511×10^9	13.410	0.001 2	X_1^2	1.021×10^9	1	1.021×10^9	2.480	0.159 1
X_1	3.053×10^8	1	3.053×10^8	0.740	0.417 4	X_2^2	6.516×10^9	1	6.516×10^9	15.850	0.005 3
X_2	4.093×10^{10}	1	4.093×10^{10}	99.540	<0.000 1	X_3^2	9.923×10^7	1	9.923×10^7	0.240	0.638 3
X_3	8.378×10^7	1	8.378×10^7	0.200	0.665 3	残差项	2.878×10^9	7	4.111×10^8		
X_1X_2	8.146×10^8	1	8.146×10^8	1.980	0.202 1	失拟项	8.113×10^8	3	2.704×10^8	0.520	0.689 1
X_1X_3	1.334×10^8	1	1.334×10^8	0.320	0.586 7	误差项	2.067×10^9	4	5.166×10^8		
X_2X_3	1.011×10^6	1	1.011×10^6	2.458×10^{-3}	0.961 8	总离差	5.248×10^{10}	16			

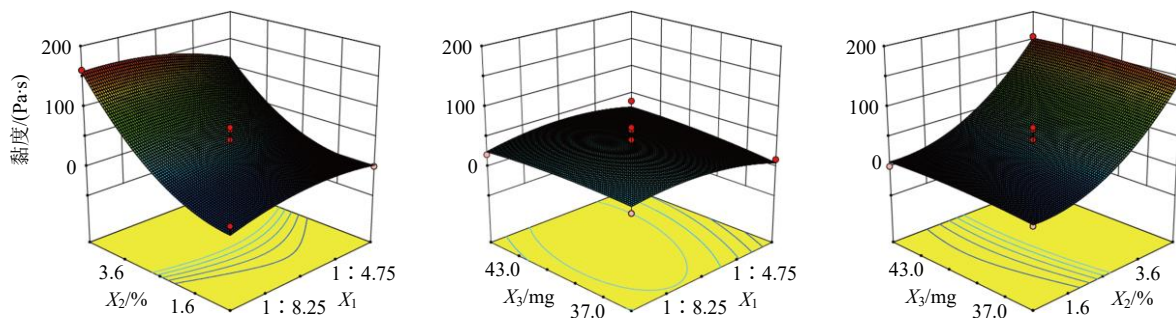


图 3 因素间交互作用的响应面 3D 图

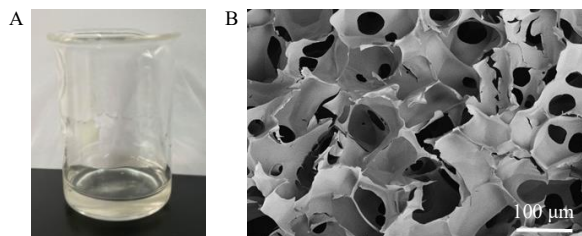
Fig. 3 Response surface 3D plots for interaction effects between factors

根素 40 mg 加入 CS- β -CD 溶液中, 超声处理助溶, 直至形成澄清溶液; 将该溶液与 CMC-Na 溶胀液混合, 于磁力搅拌器上以 350 r/min 持续搅拌, 至形成透明、均一且具有一定黏度的凝胶体系, 即得 Pur@CS- β -CD Gel。

2.5 Pur@CS- β -CD Gel 的表征

2.5.1 形态观察 Pur@CS- β -CD Gel 为无色、透明的胶状体系, 具有适中的流动性。采用扫描电子显微镜 (SEM) 观察其微观形态, 结果如图 4 所示, Pur@CS- β -CD Gel 呈现疏松、规整的三维多孔网络结构。

2.5.2 pH 值测定 使用精密 pH 计, 于室温下平行测定 3 份 Pur@CS- β -CD Gel 样品的 pH 值, 结果显示, 其 pH 值为 6.50 ± 0.04 ($n=3$)。

图 4 Pur@CS- β -CD 超分子凝胶的外观形态 (A) 和 SEM 图 (B)Fig. 4 Appearance (A) and SEM image (B) of Pur@CS- β -CD supramolecular gel

2.5.3 稳定性考察 通过离心试验与长期留样试验评价 Pur@CS- β -CD Gel 的物理稳定性。将适量凝胶在 $5\,000 \times g$ 下离心 30 min, 未观察到分层或沉淀现象。此外, 将凝胶于常温条件下放置 2 个月, 分别于第 0、1、2 个月末观察其外观性状, 结果显示, 凝胶外观性状未发生明显变化。上述结果表明, Pur@CS- β -CD Gel 具有良好的离心稳定性与长期贮藏稳定性。

2.5.4 体外释药特性考察 采用改良 Franz 扩散池法, 考察 Pur@CS- β -CD Gel 的体外释放行为。为确保葛根素 (相对分子质量 416) 能自由透过透析膜而不受膜控限速, 同时有效截留凝胶基质中的高分子组分 (CS- β -CD 相对分子质量为 $5.0 \times 10^4 \sim 5.0 \times 10^5$, CMC-Na 相对分子质量为 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$), 选择截留相对分子质量为 1.5×10^4 的透析袋固定于扩散池与接收池之间。接收池内充填模拟人工鼻液 (每 1 000 mL 纯水中含 NaCl 7.91 g、KCl 3.68 g、CaCl₂ 0.51 g、NaHCO₃ 2.56 g) [13], 体系于 $(37.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 恒温水浴中以 300 r/min 匀速搅拌。预平衡 30 min 后, 将 6.5 mL Pur@CS- β -CD Gel 均匀涂布于透析袋内侧。于设定的时间点 (10、30 min 及 1、2、4、6、8、10、12、24 h), 精密吸取接收液 1 mL (同时补加同温等体积新鲜释放介质), 将取样液蒸干后以甲醇复溶, 经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过后, 于 250

nm 处测定 A 值, 计算葛根素的累积释放度。

释放曲线如图 5 所示, 葛根素的体外累积释放度随时间变化呈先快后缓的趋势。0~4 h 内释放迅速, 累积释放率已达 82.75%; 此后释放速率明显减慢, 进入平稳缓释阶段。该释放特征表明, Pur@CS- β -CD Gel 能够实现葛根素的快速初始释放, 并随后维持缓释效果。

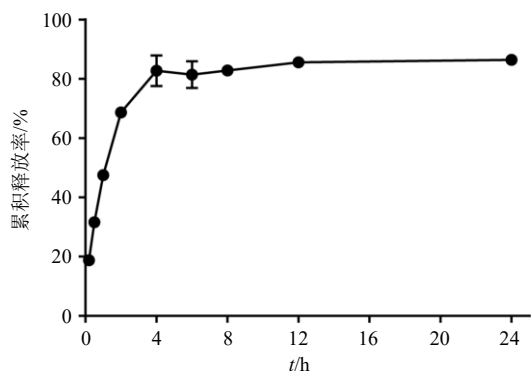


图 5 葛根素体外累积释放曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 *In vitro* cumulative release curves of puerarin ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.5.5 鼻黏膜刺激性评价 将 SD 大鼠随机分为 2 组, 生理盐水对照组与 Pur@CS- β -CD Gel 组, 每组 3 只。单次鼻腔给予相应制剂 100 μ L, 观察大鼠给药后的一般行为状态。给药后 2 组大鼠均状态良好, 未出现哮喘、咳嗽或窒息等异常反应。24 h 后处死动物, 取鼻中隔黏膜组织进行苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 于光学显微镜下观察组织病理学变化。结果如图 6 所示, 与生理盐水对照组相比, Pur@CS- β -CD Gel 组大鼠鼻黏膜的纤毛结构清晰、排列有序, 未见明显的上皮损伤、炎性细胞浸润或其他病理性改变。结果表明, Pur@CS- β -CD Gel 对鼻黏膜无明显刺激性。

2.6 Pur@CS- β -CD Gel 抗偏头痛药效评价

2.6.1 动物分组、造模与给药 将 SD 大鼠随机分为

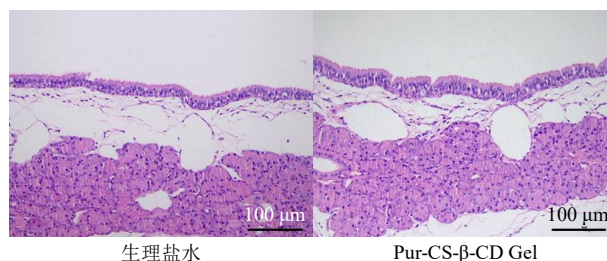


图 6 大鼠鼻黏膜组织病理切片 (HE 染色, $\times 200$)

Fig. 6 Histopathological sections of rat nasal mucosa (HE staining, $\times 200$)

4 组, 分别为对照组、模型组、葛根素原料药 (10 mg/mL) 组和 Pur@CS- β -CD Gel (含葛根素 10 mg/mL) 组, 每组 6 只, 雌雄各半。除对照组外, 其余各组于第 3、5、7、9 天 sc 硝酸甘油 (10 mg/kg) 制备慢性偏头痛模型。根据预实验中大鼠鼻腔耐受性评估结果, 确定单侧鼻腔的最大给药体积为 100 μ L。在此体积下, 于造模成功 2 h 后, 给药组每日经单侧鼻腔给予相应药物 (100 μ L/次), 每天 1 次, 对照组及模型组则给予等体积生理盐水, 连续给药 9 d。

2.6.2 行为学评价 造模后 1 h 内, 记录大鼠的以下指标: (1) 耳红持续时间; (2) 头皮破损程度 (1~3 分评分法): 头皮无明显异常记为 1 分, 头皮乌青且毛发湿润记为 2 分, 头皮出血破损记为 3 分; (3) 挠头行为 (总次数与连续次数)。头皮破损程度评分由 1 名研究人员在单盲条件下 (不知晓动物分组及给药情况) 完成。

结果如表 6 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠出现极显著的耳红、头皮破损和挠头行为 ($P < 0.001$), 表明造模成功。与模型组相比, 各给药组的耳红时间、总挠头次数及连续挠头次数均极显著减少 ($P < 0.001$); 头皮破损程度亦显著降低 (葛根素原料药组 $P < 0.01$, Pur@CS- β -CD Gel 组 $P < 0.001$)。整体而言, Pur@CS- β -CD Gel 组对各行为学指标的

表 6 各组大鼠行为学评价及脑组织中 CGRP、5-HT 和 IL-1 β 水平变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 6 Behavioral evaluation and levels of CGRP, 5-HT and IL-1 β in brain tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ (mg·mL ⁻¹)	耳红时间/ min	头皮破损 程度/分	总挠头次数	连续挠头 次数	CGRP/ (pg·mL ⁻¹)	5-HT/ (ng·mL ⁻¹)	IL-1 β / (pg·mL ⁻¹)
对照	—	0.000 $\pm$ 0.000	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	27.45 $\pm$ 13.48	114.20 $\pm$ 24.32	326.70 $\pm$ 55.51
模型	—	21.400 $\pm$ 3.782 ^{###}	2.60 $\pm$ 0.54 ^{###}	133.70 $\pm$ 26.55 ^{###}	65.50 $\pm$ 14.87 ^{###}	126.70 $\pm$ 42.09 ^{###}	63.91 $\pm$ 9.597 ^{##}	432.60 $\pm$ 26.24 ^{##}
葛根素原料药	10	4.860 $\pm$ 4.259 ^{***}	1.60 $\pm$ 0.54 ^{**}	77.60 $\pm$ 23.17 ^{***}	21.40 $\pm$ 11.86 ^{***}	60.13 $\pm$ 13.76 ^{***}	103.10 $\pm$ 19.69 [*]	414.10 $\pm$ 43.98
Pur@CS- β -CD Gel	10	3.430 $\pm$ 3.259 ^{***}	0.80 $\pm$ 0.41 ^{***}	53.40 $\pm$ 15.87 ^{***}	8.40 $\pm$ 4.76 ^{***}	60.49 $\pm$ 9.471 ^{***}	132.60 $\pm$ 20.06 ^{***}	355.00 $\pm$ 27.99 [*]

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ 。

^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs blank group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

改善效果均优于葛根素原料药组。

2.6.3 脑组织生物标志物测定 末次给药后,取脑组织匀浆,采用 ELISA 法检测 CGRP、5-HT 和 IL-1 β 水平(表 6)。与对照组相比,模型组脑内 CGRP 与 IL-1 β 水平显著升高($P<0.01$ 、 0.001),而 5-HT 水平显著降低($P<0.01$)。与模型组相比,2 个给药组均能极显著降低 CGRP 水平($P<0.001$);对于 5-HT,葛根素原料药组可使其升高($P<0.05$),Pur@CS- β -CD Gel 组则可极显著升高($P<0.001$);对于 IL-1 β ,葛根素原料药组虽有一定降低趋势但无统计学差异,而 Pur@CS- β -CD Gel 组可显著降低其水平($P<0.05$)。

2.6.4 统计学分析 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行数据处理及分析,多组样本均数的两两比较采用 One-Way ANOVA 方差分析, $P<0.05$ 表示有统计学意义。

3 讨论

本研究构建的 Pur@CS- β -CD 超分子凝胶的形成机制主要基于以下非共价相互作用:首先,CS- β -CD 中的壳聚糖链段富含氨基和羟基,而 CMC-Na 含有大量的羧甲基和羟基。二者在去离子水介质中可通过分子间氢键和静电相互作用形成动态、可逆的物理交联网络^[14]。其次,CS- β -CD 中的 β -环糊精空腔不仅能够包合疏水性葛根素分子^[15],也可能与 CMC-Na 链段上的疏水区域发生弱相互作用,进一步稳定凝胶三维网络结构^[12,16]。这种多重非共价交联机制赋予凝胶良好的剪切稀化特性,使其适合鼻腔黏膜给药^[17-18]。

体外释放呈现典型的“突释-缓释”双相特征:0~4 h 累积释放 82.75%,满足偏头痛急性发作快速镇痛需求;后续缓释维持有效血药浓度。该释药行为可能源于凝胶表面及近表面药物的快速溶出(突释相),而缓释相则主要归因于凝胶网络对未包合药物的扩散阻滞作用,以及少量被环糊精包合药物需克服包合作用缓慢解离的共同结果^[19]。

处方组成分析显示,CS- β -CD 投料量 10 mg(含 β -CD 约 6 mg,对应空腔约 5.3 μmol),葛根素 40 mg(约 96.0 μmol),药物/空腔物质的量比约为 18:1,远超 1:1 饱和包合比例。据此估算,仅约 5.5% 的葛根素可能被 β -CD 空腔包合,其余大部分可能以无定形或分子分散状态负载于凝胶网络中。这一比例与释放行为中突释为主的特征相一致,但确切的分子状态还需 X 射线衍射、差示扫描量热法等固

态表征进一步确证。

为客观评价本研究中制剂的性能优势,将其与近年来报道的葛根素鼻用制剂进行横向对比。陈函等^[20]采用脂质体联合温敏凝胶策略,脂质体载药量为 3.45%,36 h 累积释放率为 78.50%,表现出良好的缓释效果。甘慧琴等^[21]基于氨基化葛根多糖载体构建纳米粒温敏凝胶,载药量为 15.63%,体外释放符合一级动力学方程,相对生物利用度较原料药提高至 219.53%。相比之下,本研究制备的 Pur@CS- β -CD 超分子凝胶载药量达 28.6%(按载体材料质量计),显著高于上述文献报道值,其双相释放特征在快速起效与持续释药之间实现了更优的时间匹配,体现出明确的制剂学优势。

鼻黏膜病理学检查显示,凝胶组纤毛结构清晰、无炎性浸润,且制剂 pH 6.5 接近鼻腔生理 pH 范围,证实了其良好的生物相容性^[5]。

在响应面优化结果中,方差分析显示模型整体显著($P<0.01$),失拟项不显著($P>0.05$),表明所建二次多项式模型能够有效描述各因素与凝胶黏度之间的关系。尽管因素 X_1 (CS- β -CD 与 CMC-Na 质量比)与因素 X_3 (葛根素质量)的主效应及各交互项(X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3)均未达到统计学显著水平($P>0.05$),但这一结果并非否定其工艺意义,而是反映了特定优化区间内的因素作用特征。因素 X_1 在单因素考察中表现出对成胶行为的调控作用,但在多因素模型中主效应不显著,提示其影响可能被总质量分数(因素 X_2)所覆盖,且黏度对配比的敏感度较低,这有利于处方的稳健性。因素 X_3 的不显著性说明在 35~45 mg,葛根素的加入未对凝胶骨架的流变性质产生可检测的干扰,推测其被有效包合于环糊精空腔或均匀分散于凝胶网络中,进一步证实该超分子体系对药物负载具有良好的耐受性。各交互项均不显著,表明两两因素之间无明显的协同或拮抗作用,各因素对黏度的影响相对独立,这简化了处方开发与工艺调控过程。

综上所述,尽管部分效应未达显著水平,但模型整体有效,且关键因素 X_2 及其 2 次项 X_2^2 均显著($P<0.01$),证实存在最优区间。最终优化处方经实验验证具有良好的理化性质与释放行为,表明响应面法仍为 Pur@CS- β -CD Gel 处方优化的可靠工具。

药效学研究表明,Pur@CS- β -CD Gel 鼻腔给药显著降低偏头痛大鼠脑内 CGRP 及 IL-1 β 水平、提升 5-HT 含量,效果优于原料药。其可能机制在于:

①阻断三叉神经血管系统 CGRP 释放,减轻神经源性炎症^[22];②调节 5-HT 系统改善神经递质失衡^[23];③通过抗炎作用降低 IL-1 β 介导的痛觉敏化^[24]。

本研究仍存在若干局限性:①硝酸甘油诱导的慢性偏头痛动物模型仅部分模拟临床表型,难以全面反映人类偏头痛的神经血管-免疫多维异质性;②超分子凝胶多次给药的长期安全性和免疫原性尚未系统评估;③本研究未直接测定鼻腔给药后脑组织中的葛根素浓度,缺乏脑靶向性的定量药动学证据,其体内代谢、鼻腔滞留、血脑屏障穿透及脑内分布等关键参数均有待确证。需要指出的是,上述药效学结果虽间接提示药物能够到达脑内作用靶点,但仍不能直接证明其脑靶向效率。已有文献报道壳聚糖及其衍生物修饰的环糊精载体经鼻给药可促进药物入脑^[11,14],本研究制剂的脑靶向潜力值得后续采用 LC-MS/MS、荧光成像等方法进一步验证。后续工作将整合代谢组学与实时动态显像,深入解析超分子凝胶经鼻入脑的时空过程,并拓展其在中枢神经系统疾病的应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄建花,陈玉柱,佟菲,等.偏头痛持续状态的诊断及治疗策略进展[J].中国疼痛医学杂志,2021,27(1):60-63.
- [2] Zong S Y, Wang M, Ma X Y, *et al.* Development and characterization of *Magnoliae Flos* essential-oil-loaded nanoemulsion: A spatiotemporal nose-to-brain delivery enhancer for solution and gel-based pharmaceutical formulations [J]. *Pharmaceutics*, 2025, 17(12): 1535.
- [3] Li Y, Wang C L, Zong S Y, *et al.* The trigeminal pathway dominates the nose-to-brain transportation of intact polymeric nanoparticles: Evidence from aggregation-caused quenching probes [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15(4): 686-702.
- [4] 施之琪,李卿,贾凡,等.齐墩果酸液晶纳米温敏凝胶大鼠鼻腔给药药动学及脑靶向性研究[J].中国医院药学杂志,2025,45(12):1363-1369.
- [5] Wang M, Ma X Y, Zong S Y, *et al.* The prescription design and key properties of nasal gel for CNS drug delivery: A review [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2024, 192: 106623.
- [6] 张庆美.葛根素片联合天麻素片对风热证偏头痛模型大鼠 CGRP 及其受体表达的影响[D].北京:北京中医药大学,2019.
- [7] 叶盛航,朱卫丰,臧振中,等.葛根素-大豆苷元包合物纳米晶的制备及性能研究[J].中国药学杂志,2024,59(22):2159-2168.
- [8] Li X X, Li S L, Ma C, *et al.* Preparation of baicalin-loaded ligand-modified nanoparticles for nose-to-brain delivery for neuroprotection in cerebral ischemia [J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 1282-1298.
- [9] Feng J, Li F Z, Zhao Y M, *et al.* Brain pharmacokinetics of tetramethylpyrazine after intranasal and intravenous administration in awake rats [J]. *Int J Pharm*, 2009, 375(1/2): 55-60.
- [10] Pradhan P, Rai V K, Halder J, *et al.* Development and characterization of chitosan nanoparticles containing quercetin- β -cyclodextrin inclusion complex for improved solubility, brain targeting, and neuroprotective potential against epilepsy [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2025, 26(5): 124.
- [11] Cama E S, Catenacci L, Perteghella S, *et al.* Design and development of a chitosan-based nasal powder of dimethyl fumarate-cyclodextrin binary systems aimed at nose-to-brain administration. A stability study [J]. *Int J Pharm*, 2024, 659: 124216.
- [12] Zhu J H, Chen X, Chen Y, *et al.* Preparation and characterization of ternary polysaccharide hydrogels based on carboxymethyl cellulose, carboxymethyl chitosan, and carboxymethyl β -cyclodextrin [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 271: 132604.
- [13] 刘新国,舒翔.星点设计-效应面法优选磷酸川芎嗪鼻用原位凝胶基质处方的研究[J].中国医院药学杂志,2019,39(21):2168-2171.
- [14] Mashabela L T, Maboja M M, Miya N F, *et al.* A comprehensive review of cross-linked gels as vehicles for drug delivery to treat central nervous system disorders [J]. *Gels*, 2022, 8(9): 563.
- [15] De Gaetano F, D'Avanzo N, Mancuso A, *et al.* Chitosan/cyclodextrin nanospheres for potential nose-to-brain targeting of idebenone [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 15(10): 1206.
- [16] Wang S X, Wei Y P, Wang Y, *et al.* Cyclodextrin regulated natural polysaccharide hydrogels for biomedical applications-a review [J]. *Carbohydr Polym*, 2023, 313: 120760.
- [17] Wang Y Q, Wang L M, Han L F, *et al.* A promising strategy of brain targeted delivery for the treatment of Parkinson's disease: Cyclodextrin supramolecular inclusion complex based thermosensitive gel [J]. *J Pharm Anal*, 2025, 15(5): 101102.
- [18] Kashif M U R, Sohail M, Ali Khan S, *et al.* Chitosan/guar gum-based thermoreversible hydrogels loaded with pullulan nanoparticles for enhanced nose-to-brain drug

- delivery [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 215: 579-595.
- [19] Agrawal M, Saraf S, Saraf S, *et al.* Stimuli-responsive *in situ* gelling system for nose-to-brain drug delivery [J]. *J Control Release*, 2020, 327: 235-265.
- [20] 陈函, 廉婷, 杜远东, 等. 鼻用葛根素脂质体温敏凝胶剂的制备与质量评价 [J]. 化工科技, 2020, 28(5): 41-46.
- [21] 甘慧琴, 梅陈松, 关志宇, 等. 葛根多糖载葛根素纳米粒温敏凝胶的制备及其药动学研究 [J]. 中草药, 2024, 55(21): 7238-7247.
- [22] Zhang Y Y, Li Q, Hu J L, *et al.* Nasal delivery of cinnarizine thermo- and ion-sensitive *in situ* hydrogels for treatment of microwave-induced brain injury [J]. *Gels*, 2022, 8(2): 108.
- [23] Sipos B, Bella Z, Gróf I, *et al.* Soluplus[®] promotes efficient transport of meloxicam to the central nervous system via nasal administration [J]. *Int J Pharm*, 2023, 632: 122594.
- [24] Pires P C, Paiva-Santos A C, Veiga F. Liposome-derived nanosystems for the treatment of behavioral and neurodegenerative diseases: The promise of niosomes, transfersomes, and ethosomes for increased brain drug bioavailability [J]. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(10): 1424.

[责任编辑 郑礼胜]