

石杉碱甲的大鼠鼻黏膜吸收研究

王俏¹,蒋晓航²,姜毓丽¹,陈国神^{1*} (1.浙江省医学科学院,杭州 310013; 2.浙江中医学院毕业实习生,杭州 310053)

摘要:目的 研究治疗早老性痴呆症药物石杉碱甲的鼻黏膜吸收特性。方法 采用石杉碱甲进行大鼠鼻腔灌流实验,测定循环液中药物浓度。结果 随着石杉碱甲的浓度增加(0.125~0.75 mg/mL),其吸收速度呈线性增加($r=0.995$)。在 pH 值 5.5~7.5 内,随 pH 值的升高,其吸收速度增加。结论 石杉碱甲的鼻黏膜吸收良好,其吸收程度与药液的浓度和 pH 值有较好的相关性。

关键词:石杉碱甲;鼻腔循环灌流;鼻黏膜吸收;吸收速度常数

中图分类号:R945.1 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2007)02-0094-03

Study on Nasal Mucosa Absorption of Huperzine A in Rats

WANG Qiao¹, JIANG Xiao-hang², JIANG Yu-li¹, CHEN Guo-shen^{1*} (1. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2. Zhejiang College of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the nasal absorption of huperzine A, which is a reversible acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. **METHODS** In situ nasal recirculation method was used to estimate the nasal absorption rate constants of huperzine A in rats. **RESULTS** The absorption rate constants were increased with the increasing of the concentration (0.125 - 0.75 mg/mL) and pH values(5.5 ~ 7.5) of huperzine A. **CONCLUSION** The nasal absorption of huperzine A was good and correlated with the concentration and pH.

KEY WORDS: huperzine A; in situ rat nasal recirculation test; nasal absorption; absorption rate constant

石杉碱甲是石杉科石杉属植物千层塔中提取分离得到的生物碱,是一种强效、可逆性胆碱酯酶抑制剂,用于治疗早老性痴呆症。现有商品为口服石杉碱甲片和石杉碱甲胶囊。石杉碱甲的靶器官为大脑,常规口服给药时药物全身分布,外周不良反应明显,有研究表明鼻腔给药是向脑内输送药物的新途径,将石杉碱甲鼻腔给药预期会使其更具脑靶向性。有关石杉碱甲的鼻腔给药吸收研究未见报道。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂

石杉碱甲购自浙江万邦药业有限公司,甲醇为色谱纯,磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氯化钠均为分析纯。

仪器与色谱条件:微量输液泵(保定兰格恒流泵有限公司,BT01-100);微机型酸度计(上海理达仪器厂,PHS-3C);恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂,S21-1);高效液相仪(日本岛津公司,LC-10A,双泵),色谱柱:Shim-Pack CLC-ODS(6.0 mm ID×15 cm);流动相:甲醇:水(55:45),其中水每 500 mL 加入 50 μ L 三乙醇胺碱化;检测波长 313 nm。

实验动物:Sprague-Dawley 大鼠,雄性,250~350g,本院动物中心提供。

2 实验方法

2.1 大鼠鼻腔在体重循环法

参照文献方法^[1],大鼠腹腔注射 20%乌拉坦麻醉,仰卧

固定于平板上。切开颈部皮肤,暴露器官和食管,取聚乙烯管 2 支,一支插入气管,另一支插入食管,直至鼻腔后部。用胶黏剂将鼻腔与口腔的鼻咽通道封闭以防药液从口腔中流失。管的另一端经过恒流泵插入药液,手术完成后将盛有药液的接收池放入 37℃ 水浴恒温,恒流泵使药液经鼻腔通过连续循环,循环液流速为 2.5 mL·min⁻¹,循环液量为 5 mL,实验温度为 (37±1)℃,取样时间为 0,5,15,30,45,60,75 min,每次取样 50 μ L,循环液中补加同温度 50 μ L 生理盐水。样品加蒸馏水 5 mL,振荡器搅匀,进 HPLC 测定(20 μ L)。代入标准曲线,求得相应的浓度,按文献方法^[1]计算吸收速度常数 k,以 k 值大小确定药物的鼻腔吸收情况。

2.2 方法的专属性

鼻腔循环液中的杂质不干扰主峰测定,见图 1。

2.3 标准曲线的制备

用流动相将石杉碱甲配成 0.249,0.498,0.994,2.492,4.985,6.958,9.940 μ g·mL⁻¹,取 20 μ L 进样,以峰面积为纵坐标(Y),以浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,得回归方程 $Y = -820.18 + 23212.07X$, $r = 0.9999$ 。在浓度 0.249~9.940 μ g·mL⁻¹内,线性良好。

2.4 精密度

取石杉碱甲对照品(浓度为 2.492 μ g·mL⁻¹),日内连续进样 5 次,连续进样 3 d,测定日内、日间误差。日内误差

作者简介:王俏(1970-),女,副研,在读博士,主要从事药物新剂型研究
* 通讯作者:陈国神 E-mail: immtdscgs@163.com Tel: (0571)88215623

为1.39%,日间误差为 2.27%。

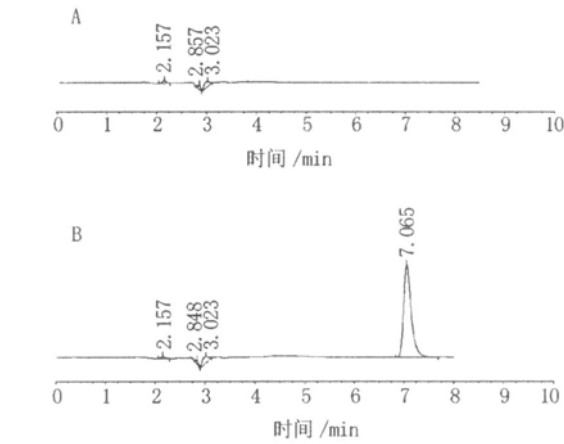


图 1 石杉碱甲鼻腔循环液 HPLC图
Fig 1 HPLC chromatogram of huperzine A in nasal recirculation solution

A 空白图谱; B 样品图谱
A blank; B sample

2.5 回收率

取空白的生理盐水缓冲液经大鼠鼻腔循环 0.5 h后,取 100 μL液体至 10 mL量瓶中加入石杉碱甲储备液,制成高、中、低三个浓度,摇匀后进 HPLC测定,平均回收率为 96.51%,RSD为 2.44%。

3 试验结果

3.1 不同 pH值条件下石杉碱甲鼻黏膜吸收

配制 pH为 5.5、6.5、7.5的磷酸盐缓冲液,每取 5 mL鼻腔循环,于取样点取样 50 μL,同时补加等量的生理空白液。HPLC检测结果显示, pH为 7.5时石杉碱甲的鼻黏膜吸收速度常数最高,与其他两组均有显著性差异。pH的变化对石杉碱甲的鼻黏膜吸收影响明显。见表 1。

表 1 不同 pH值时石杉碱甲(浓度为 0.5 mg·mL⁻¹)的鼻黏膜吸收速度常数 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	pH值	吸收速度常数 / ($\times 10^{-3}$, m·min ⁻¹)
1	5.5	3.771 $\pm$ 0.555
2	6.5	4.586 $\pm$ 0.484 *
3	7.5	5.433 $\pm$ 0.666 Δ^{Δ}

注:与第 1组比较, * P<0.05, Δ P<0.01;第 2组与第 3组比较, Δ^{Δ} P<0.05

Note: * P<0.05, Δ P<0.01, vs No.1 group; No.2 vs No.3, Δ^{Δ} P<0.05

3.2 不同浓度石杉碱甲的鼻黏膜吸收

用缓冲液 pH为 7.5的生理盐水配制 0.125、0.25、0.50、0.75 mg·mL⁻¹的作为鼻腔循环液,每取 5 mL鼻腔循环,于取样点取样 50 μL,同时补加等量的生理空白液。HPLC检测结果显示,随石杉碱甲浓度的增加,药物的鼻黏膜吸收呈线性增加,将其吸收速度常数与相应的浓度回归,相

关系数 r=0.995。见表 2。

表 2 不同浓度石杉碱甲的鼻黏膜吸收速度常数 (pH为 7.5) (n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Nasal absorption rate constants of huperzine A (pH 7.5) at different concentration in rats (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	药物浓度 / (mg· mL ⁻¹)	吸收速度常数 / ($\times 10^{-3}$, m·min ⁻¹)
1	0.125	4.105 $\pm$ 0.662
2	0.250	4.411 $\pm$ 0.851
3	0.500	5.433 $\pm$ 0.666 *
4	0.750	6.074 $\pm$ 0.956 Δ

注:与第 1、2组比较, * P<0.05, Δ P<0.01;其他两两之间无显著性差异, P>0.05

Note: * P<0.05, Δ P<0.01, vs No.1 and No.2 group; others P>0.05

3.3 薄荷脑对石杉碱甲鼻黏膜吸收的影响

取薄荷脑、羟丙基 β环糊精用缓冲生理盐水制成含羟丙基 β环糊精为 8%、薄荷脑为 0%、0.2%、0.4%的溶液,再加入石杉碱甲(浓度为 0.5 mg/mL)。大鼠鼻腔循环结果表明, 0.4%以下浓度的薄荷脑对石杉碱甲无明显的促进作用。见表 3。

表 3 薄荷脑不同浓度时石杉碱甲的鼻黏膜吸收速度常数 (pH为 7.5,药物浓度为 0.5 mg/mL) (n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Nasal absorption rate constants of huperzine A (pH 7.5, 0.5 mg/mL) at different menthol concentration in rats (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	薄荷脑浓度 / %	吸收速度常数 / ($\times 10^{-3}$, m·min ⁻¹)
1	0	5.433 $\pm$ 0.666
2	0.2	5.368 $\pm$ 0.730
3	0.4	5.805 $\pm$ 0.783

注:两两之间无显著性差异, P>0.05

Note: P>0.05

4 小结

鼻腔给药是传统的给药方式,近来有研究表明^[2-4],鼻腔给药是向脑内输送药物的新途径,鼻腔与颅腔在解剖生理上有独特的联系:嗅神经通路和嗅黏膜上皮通路,使药物可直接吸收入脑,特别适合脑靶向的给药需要。另外,鼻黏膜下血管丰富,药物可直接通过鼻黏膜吸收进入体循环,避免给药时的肝脏首过作用,使其生物利用度明显提高。将石杉碱甲鼻腔给药预期会使其更具脑靶向性,并且减轻外周不良反应。关于石杉碱甲鼻腔给药后脑内浓度的情况有待进一步研究。

药物的脂溶性是影响生物膜吸收的重要因素。药物的脂溶性取决于它本身的分子结构及所处 pH条件下的分子型比例。溶液 pH的变化会影响药物的油-水分配系数。本研究中石杉碱甲为弱碱性药物,所以,随着溶液 PH的升高,药物逐渐被中和为分子型游离碱,脂溶性增加,药物容易通过鼻黏膜脂质双分子层,吸收速度逐渐增加。另外,随石杉碱甲浓度的增加,药物的鼻黏膜吸收速度常数呈线性增加,线

性关系良好。

有研究表明薄荷醇、薄荷脑、冰片等对药物鼻腔吸收有促进作用^[5-6],因薄荷脑极微溶于水,故用羟丙基 β 环糊精增溶。经志愿者试验,溶液中以羟丙基 β 环糊精浓度为8%时为好,没有不适感。此环糊精浓度时,薄荷脑0.4%已近饱和。本试验中薄荷脑对石杉碱甲无明显的促进作用,可能是薄荷脑的浓度比较低的缘故。

参考文献

- [1] JIANG X G, LU X, CUI J B, *et al*. Study on octanol-water partition coefficient and nasal drug absorption[J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 1997, 32(6): 458-460.
- [2] WANG F, JIANG X G. Advances of using the nasal route for drug delivery to the brain[J]. Acta Pharm Sin (药学学报),

2001, 36(8): 636.

- [3] ILLUM L. Nasal drug delivery—possibilities, problems and solutions[J]. J Controlled Release, 2003, 87: 187-198.
- [4] WU X Y, GAO Y L. Progress in nasal administration for delivery to CNS system [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2003, 38(8): 561-564.
- [5] WANG H, XUE M Q. Nasal absorption of furosemide and promotion action of l-menthol[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与治疗学), 2000, 5(1): 59-61.
- [6] XU W H, WANG H, XU W M. Nasal absorption of ligustrazine and promotion action of synthetic borneol[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与治疗学), 2002, 7(5): 434-436.

收稿日期: 2006-09-04