

野菊花总黄酮生物黏附双层缓释贴片中 蒙花苷体外释放与黏膜渗透考察

段晓颖^{1*}, 马秋莹², 闫艳仓², 程远方², 翟海容²

(1. 河南中医学院第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 郑州 450000;

2. 河南中医学院药学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:考察野菊花总黄酮生物黏附双层缓释贴片中蒙花苷的体外释放规律与体外透膜机制。方法:选择蒙花苷为指标成分,考察野菊花总黄酮生物黏附双层缓释贴片的体外释放规律;采用牛蛙的腹皮,通过透皮扩散试验探索药物的透膜机制。结果:体外释放和黏膜渗透的拟合方程分别为 $\ln Q = 1.387 \ln t - 0.461$ ($r = 0.990$), $\ln Q = 0.969 \ln t + 3.240$ ($r = 0.9943$), 均符合 Ritger-Peppas 方程,该制剂在释放介质中释药体系为 Fick 扩散和凝胶骨架溶蚀的协同作用。结论:该缓释贴片的释药性较好且具有一定黏膜透过性。

[关键词] 野菊花总黄酮; 生物黏附剂; 双层缓释贴片; 体外释放度; 黏膜透过性

[中图分类号] R283.6; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0022-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190022

Investigation of *in vitro* Release and Mucosal Permeability of Linarin in Chrysanthemi Indici Flos Total Flavonoids Bioadhesive Bilayer Sustained-release Patches

DUAN Xiao-ying^{1*}, MA Qiu-ying², YAN Yan-cang², CHENG Yuan-fang², ZHAI Hai-rong²

(1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM),

[收稿日期] 20140210(014)

[基金项目] 郑州市科技攻关计划项目(10PTGS485-3)

[通讯作者] *段晓颖,主任药师,硕士生导师,从事中药新剂型新技术与新药研究, Tel:0371-66233639, E-mail:dxy137@sina.com

础,在室温及溶剂存在下数秒钟内把物料破碎至细微颗粒,使有效成分迅速达到平衡,通过过滤达到提取目的,能最大限度保留有效成分。除本文选择的指标成分外,杜仲叶中主要有效成分还有京尼平苷,但其含量较低,故未作为评价指标。

[参考文献]

[1] 张康健,王蓝,马柏林,等. 中国杜仲次生代谢物[M]. 北京:科学出版社,2002:3.

[2] 王军宪,郝秀华,雷海民,等. 杜仲叶化学成分研究[J]. 西北药学杂志,1996,11(增刊):13.

[3] 尉芹,王冬梅,马希汉,等. 杜仲叶总黄酮含量测定方法研究[J]. 西北农业科技大学学报:自然科学版,2001,29(5):110.

[4] Kim H Y, Moon B H, Lee H J, et al. Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* O. with glycation inhibitory activity [J]. J Ethnopharmacol, 2004, 93

(2):227.

[5] 付佳明,万茵,张硕,等. 杜仲叶总黄酮超临界流体提取工艺优化及其成分的液质联用分析[J]. 食品科学,2007,28(12):128.

[6] 彭金年,刘丽华,程庚金生,等. 杜仲叶中杜仲醇含量的季节变化研究[J]. 赣南医学院学报,2009,29(4):494.

[7] 巩江,倪士峰,路锋,等. 杜仲叶挥发物质气相色谱-质谱研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(17):8998.

[8] 袁天翊,方莲花,吕扬,等. 杜仲叶的药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2013,38(6):781.

[9] 孙彦超,李钦,杜红岩,等. RP-HPLC 法测定杜仲叶中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷的含量[J]. 中成药,2009,31(10):1608.

[10] 兰小艳,黄敏,张学俊. 杜仲叶中绿原酸醇提法的工艺研究[J]. 中国农学通报,2009,25(18):84.

[责任编辑 刘德文]

the Third Grade Laboratory of State Administration of TCM, Zhengzhou 450000, China;

2. School of Medicine, Henan University of Chinese Traditional Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate *in vitro* release law and mucosal permeability mechanism of linarin in *Chrysanthemi Indici Flos* total flavonoids bioadhesive bilayer sustained-release patches. **Method:** Taking linarin as index components, *in vitro* release law of total flavonoids bioadhesive bilayer sustained-release patches was investigated; abdominal skin of bullfrog was adopted, mucosal permeability mechanism of this preparation was explored through transdermal diffusion test. **Result:** Equations of *in vitro* release and transdermal diffusion were fitted $\ln Q = 1.387 \ln t - 0.461$ ($r = 0.990$) and $\ln Q = 0.969 \ln t + 3.240$ ($r = 0.9943$), which were in line with Ritger-Peppas equation. Release system of this preparation in release medium was synergy results of Fick diffusion and gel matrix erosion. **Conclusion:** These prepared patches have good sustained-release and a certain mucosal permeability.

[Key words] total flavonoids from *Chrysanthemi Indici Flos*; bioadhesive preparation; bilayer sustained-release patches; *in vitro* release; mucosal permeability

野菊花功效清热解毒、平肝,富含黄酮类、萜类、挥发油、有机酸等化学成分及硒、镍、锰等微量元素,具有抗菌消炎、抗病毒、抗癌、降血压等药理作用,常用于治疗各种炎症、病毒性疾病、心血管疾病等^[1]。陈晓宇通过研究野菊花总黄酮对佐剂性关节炎大鼠的治疗作用,证实其有效部位为黄酮类化合物^[2]。前期研究发现野菊花总黄酮具有较好的抗口腔溃疡作用,并将其制成了口腔生物黏附双层贴片。本实验以黄酮类化合物中主要成分—蒙花苷为指标成分,考察野菊花总黄酮口腔生物黏附贴片的体外释放和黏膜渗透性,为该制剂的临床应用提供参考。

1 材料

LXJ-II B型离心机(上海安亭科学仪器厂),G45N型超高速分离机(辽阳机械厂),SJM-FAM-01型陶瓷复合膜分离设备(合肥世杰膜工程有限责任公司),LC-10A型高效液相色谱仪(日本岛津),ZRS-8C型智能溶出试验仪(天津天大无线电厂),RYJ-6A型药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器有限公司),CP225D型电子天平(德国赛多利斯公司)。

野菊花药材(产地安徽金寨)购自河南中一医药经营有限公司,经河南中医学院第一附属医院陈天朝主任药师鉴定为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L.的头状花序;乙基纤维素(EC)、羟丙基纤维素(HPC)、卡波普934P(CP934P)均购自美国陶氏公司,乳糖(郑州诺永信商贸有限公司),AB-8型大孔吸附树脂(河北沧州宝恩化工有限公司),蒙花苷对照品(批号111528-200605,中国食品药品检定研究院),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

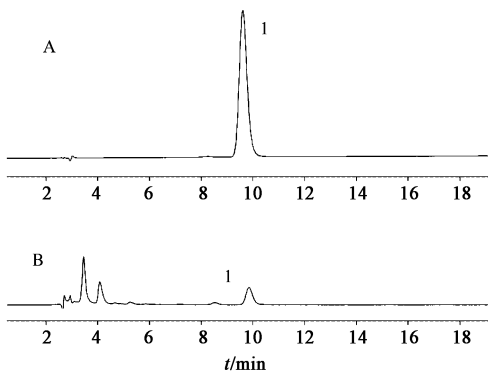
2.1 生物黏附双层缓释贴片的制备 前期研究确定的制备工艺如下:称取野菊花药材500 g,加14倍量50%乙醇回流提取2次,每次1 h,合并滤液,滤过,于12 000 r·min⁻¹动态离心,过0.05 mm陶瓷膜,药液过AB-8型大孔树脂柱,吸附30 min,加水2 BV洗脱杂质至流出液呈无色,加50%乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩干燥得野菊花总黄酮。取总黄酮10 g,加入填充剂(乳糖)2 g,混匀,加入生物黏附剂(卡波普10 g和羟丙基纤维素20 g),混匀后过80目筛,将物料放入冲模压片,再均匀加入乙基纤维素8 g,压制成直径6 mm和质量50 mg的双层药片,每片约含总黄酮10 mg。

2.2 蒙花苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 参照《中国药典》2010年版一部“野菊花”项下含量测定方法。Agilent XDB-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-冰醋酸(26:23:1),检测波长334 nm,流速1 mL·min⁻¹,柱温25 ℃,进样量10 μL,见图1。

2.2.2 线性关系考察 精密量取2.8 mg·L⁻¹蒙花苷对照品溶液0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得系列对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,以峰面积积分为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 2.6 \times 10^6 X - 2.2 \times 10^3$ ($r = 0.9995$),线性范围0.002 8 ~ 0.056 μg。

2.3 释放度试验^[3] 参照《中国药典》2010年版二部附录XD释放度测定方法转篮法,以水250 mL为释放介质,温度(37 ± 0.5) ℃,转速100 r·min⁻¹,分



A. 对照品; B. 供试品; 1. 蒙花苷

图 1 野菊花总黄酮生物黏附双层缓释贴片 HPLC

别于 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 min 取释放液 5 mL, 取样位置在介质液面与转蓝上端的正中间, 离杯壁应 ≥ 1 cm, 取样后立即补充等体积已预温至 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 的水, 经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液按 2.2.1 项下色谱条件测定, 计算蒙花苷累积释放率 ($Q, n = 2$) 分别为 4.44%, 12.18%, 26.36%, 38.18%, 61.06%, 65.66%, 71.28%, 72.25%。分别采用不同方程考察 Q 与时间的拟合情况^[4-5], 结果见表 1, 表明释放曲线采用 Ritger-Peppas 方程拟合的相关性最好。

表 1 野菊花总黄酮生物黏附双层缓释贴片中蒙花苷体外释放方程拟合

模型	回归方程	r
零级	$Q = 1.713t - 2.154$	0.989 5
一级	$\ln(100 - Q) = -0.019t + 4.631$	0.987 2
Higuchi	$Q = 7.340t^{1/2} - 9.339$	0.965 7
Ritger-Peppas	$\ln Q = 1.387\ln t - 0.461$	0.990 0

2.4 离体黏膜渗透试验 离体动物口腔黏膜来源有限, 分离困难, 一定程度影响了药物黏膜渗透研究数据的准确性^[6]。因牛蛙腹皮与黏膜的结构具有相似性^[7-8], 因此采用离体蛙皮模型进行黏膜渗透试验。取健康牛蛙断颈处死, 分离蛙腹部皮肤, 选择生理盐水为接收液^[9], 取口腔生物黏附双层片 1 片, 黏附层紧贴蛙皮外侧, 除去蛙皮多余部分, 将其与黏附片一起固定在渗透扩散装置的扩散室与接收室间, 外侧皮肤面向扩散室。在接收室中注入脱气生理盐水, 排除气泡, 使液面完全与皮肤内层接触, 有效扩散面积 2.8 cm^2 , 接收室体积 6.5 mL, 以 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速搅拌, 恒温至 37°C 。在设定时间点 90, 120, 180, 240, 300, 360, 480, 600 min 时各取样 5.0 mL, 补加等温等体积的新鲜接收液, 经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 按 2.2.1 项下色谱条件测定蒙花苷含量, 计算累

积透过率 ($Q, n = 2$) 分别为 0.97%, 2.14%, 2.59%, 4.52%, 5.18%, 7.43%, 12.10%, 15.49%。分别采用不同方程考察 Q 与 t 的拟合情况^[4-5], 见表 2, 结果表明采用 Ritger-Peppas 方程拟合的相关性最好。

表 2 野菊花总黄酮生物黏附双层缓释贴片中蒙花苷离体黏膜渗透方程拟合

模型	回归方程	r
零级	$Q = 22.248t + 4.530$	0.970 4
一级	$\ln(100 - Q) = -0.417t + 4.655$	0.982 0
Higuchi	$Q = 52.624t^{1/2} - 21.446$	0.982 2
Ritger-Peppas	$\ln Q = 0.969\ln t + 3.240$	0.994 3

3 讨论

口腔生物黏附贴片是一种具有生物黏附单向释药的双层片剂, 能较好地黏附于口腔内任何部位, 不易移动, 作用时间延长, 维持局部较高药物浓度, 可大大提高疗效, 缩短疗程, 减少用药次数。药物释放模型常基于 Fick's 方程的初始条件和边界条件下解析, 包括零级模型、一级模型、Higuchi 模型和 Ritger-Peppas 模型等, 本文通过对野菊花总黄酮生物黏附片中蒙花苷释放动力学过程和黏膜渗透过程进行模型拟合, 发现 Ritger-Peppas 模型优于其他模型, 提示该黏附贴片中主要成分在介质中释药是通过 Fick 扩散和凝胶骨架溶蚀两种机制协同作用的结果。

[参考文献]

- [1] 裴姗姗, 毕跃峰, 田野, 等. 野菊花的研究进展[J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(6): 83.
- [2] 陈晓宇. 野菊花总黄酮对佐剂性关节炎大鼠的治疗作用及机制探讨[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2007.
- [3] 郑卫红, 黄绳武. 口腔用制剂的研究进展[J]. 中国药师, 2007, 10(2): 132.
- [4] 何元田, 刘文, 刘姵, 等. 秋水仙碱双层片体外释放研究[J]. 中南药学, 2009, 7(3): 168.
- [5] 周莉, 平其能, 杨霖. 阿司匹林与双嘧达莫双层片的研制及体外释药[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(6): 434.
- [6] 魏纪鲁, 毕云生. 生物黏附给药系统的进展概况[J]. 药学实践杂志, 2002, 20(2): 77.
- [7] 陆洋, 杜守颖, 姚宗玲, 等. 栀子提取物黏膜渗透影响因素研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(3): 273.
- [8] Agarwal V, Mishra B. Design, development, and biopharmaceutical properties of buccoadhesive compacts of pentazocine [J]. Drug Dev Ind Pharm, 1999, 25(6): 701.
- [9] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 635.

[责任编辑 刘德文]