

白及胶生物黏附性的体外评价

李玉先^{1*}, 朱照静²(1.重庆市第一人民医院药剂科, 重庆 400011; 2.重庆医药高等专科学校, 重庆 400030)

中图分类号 R944;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2524-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.10

摘要 目的:评价白及胶的生物黏附性。方法:采用自制的3种黏附性测定装置,以卡波姆934为对照,测定白及胶的剪切力、分离力和胃组织留存量。结果:白及胶的剪切力显著大于卡波姆934,分离力和胃组织留存量与卡波姆934相当。结论:白及胶的生物黏附性与卡波姆934相似,是一种较好的天然生物黏附性材料。

关键词 白及胶;生物黏附性;材料;评价

Evaluation of Bioadhesive Properties of *Bletilla striata* Gum *in vitro*

LI Yu-xian¹, ZHU Zhao-jing²(1. Dept. of Pharmacy, Chongqing First People's Hospital, Chongqing 400011, China; 2. Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 400030, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the bioadhesive properties of *Bletilla striata* gum *in vitro*. METHODS: 3 kinds of self-made device was adopted to determine the shear stress of *B. striata* gum and detachment with stomach tissue and the remaining percentage in the stomach tissue using carbopol 934 as control. RESULTS: The shear stress of *B. striata* gum was bigger than carbopol 934. The detachment and remaining percentage with stomach tissue were similar to carbopol 934. CONCLUSIONS: *B. striata* gum possesses similar bioadhesive property to carbopol 934, and it is a sound bioadhesive material.

KEY WORDS *Bletilla striata* gum; Bioadhesive property; Material; Evaluation

白及为兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f. 的干燥块茎。白及胶是白及经水提醇沉后所得的一种黏多糖高分子化合物,具有局部滞留性、自身降解性、无刺激性、无毒副作用、可降低所载药物的毒性、价格低廉、资源丰富等特点,是一种良好的药物载体。为了考察白及胶作为一种新型生物黏附材料的可行性,本试验选择了3种较为常用且操作简便的体外试验方法来评价白及胶的生物黏附性。

1 材料

1.1 仪器

电子天平、pH计(瑞士Mettler Toledo公司);烘箱(上海医用恒温设备厂);黏附性能测定装置(重庆市第一人民医院药剂科自制)。

1.2 药材

白及饮片(重庆市中药饮片厂,批号:0904002)。

1.3 试剂

95%乙醇、盐酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠(重庆化学试剂厂);卡波姆934(CP934,美国Goodrich公司);pH6.8磷酸盐缓冲液(笔者自制,制法:取磷酸二氢钾6.80g、氢氧化钠0.94g,加1000ml蒸馏水溶解,调pH值为6.8);水为蒸馏水。

1.4 动物

SD大鼠24只,200~250g,♀♂不限[重庆医科大学试验动物中心提供,使用许可证号:SYXK(渝)2007-0001]。

2 方法

2.1 白及胶的制备

取白及饮片适量,粉碎成粗粒,加蒸馏水适量(约为药材量的6~8倍),60℃保温浸渍0.5h,随时搅拌,用4层纱布滤过。药渣加蒸馏水,再重复以上操作4次。合并滤液,浓缩,加

95%乙醇使含醇量达70%,析出大量白色絮状沉淀,静置过夜,次日滤过,回收乙醇,收集沉淀物,用95%乙醇洗涤3次,挥干乙醇,于80℃左右烘干,称质量,粉碎^[1],即得。

2.2 剪切力的测定^[2]

选取2块光滑的玻璃板,其中一块水平方向固定,另一块通过滑轮连接一托盘(装置见图1)。称取一定量的白及胶和CP934,分别以适量蒸馏水分散,待完全溶胀后搅拌均匀,配制2%、4%、6%、8%、10%白及胶溶液和2%CP934溶液(对照)以及pH值分别为6.8、1.0的2%白及胶溶液,用注射器滴加待测溶液0.1ml在下方固定玻璃板的中心,覆上第2块玻璃板,并施加100g重物,维持5min,向托盘内添加重物直至拉动上面一块玻璃板,托盘内重物的重力($G=mg$, m 为重物质量, g 为重力系数10N/kg)代表剪切力的大小。每组试验重复测定8次,取平均值。

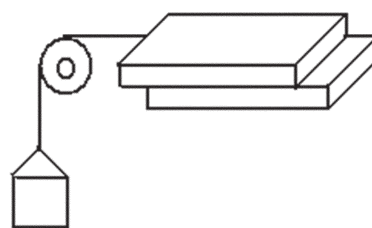


图1 剪切力的测定装置

Fig 1 Measurement device of shear stress

2.3 分离力的测定^[3-4]

取禁食24h的SD大鼠12只,用戊巴比妥钠溶液(40mg/kg)经ip麻醉,解剖取出胃,沿胃大弯剪开,用0.1mol/L盐酸将胃内壁清洗干净,剪成约1cm²的小块,固定于自制的分离力测定装置(装置见图2)的2号玻璃片上。取白及胶、CP934(对照)适量,分别以蒸馏水配制10%的溶液,涂布于1号玻璃片

* 主管药师,硕士。研究方向:药剂学、临床药学。电话:023-63844465。E-mail:lyx531@163.com

上, 50 ℃烤干, 临用前以 0.1 mol/L 盐酸润湿 10 min, 覆盖于 2 号玻璃片上, 使药膜与生物膜紧密接触, 并施加 100 g 重物。15 min 后撤去外力, 将 1、2 号玻璃片悬挂于铁架台, 在 2 号玻璃片的下方系一塑料袋, 向袋中滴加水, 直至因拉力过大而分离, 称取袋中水的质量, 并计算水的重力, 此时的重力即药膜与生物膜之间的剥离力, 也就是分离力。每组试验重复测定 6 次, 取平均值。

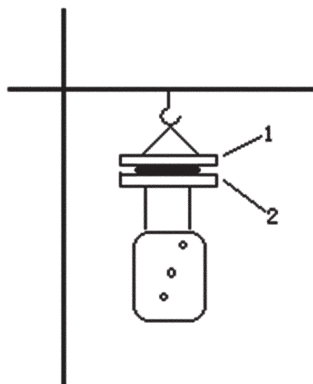


图2 分离力的测定装置

Fig 2 Measurement device of detachment

2.4 胃组织留存量的测定^[6-7]

动物处理同“2.3”项下方法, 解剖取出胃后沿胃大弯剪开, 用 0.1 mol/L 盐酸将胃内壁冲洗干净, 固定在自制的组织留存量的测定装置(装置见图3)的支撑物玻璃片上。分别将白及胶、CP934(对照) 20 mg 均匀洒在黏膜组织上, 在相对湿度为 92.5% (饱和氯化钠溶液) 的密闭容器中放置 20 min, 充分水化后将玻璃片倾斜 45° 放置, 以输液器控制流速, 用 0.1 mol/L 盐酸 100 ml 冲洗, 冲洗液收集于一已知质量的烧杯中, 于 70 ℃ 烘干, 称质量。按下式计算胃组织留存量: 胃组织留存量 = $[M - (G - g - m)] / M \times 100\%$ (式中, M 为药物质量; g 为空烧杯质量; G 为烧杯与烘干后残渣总质量; m 为同体积冲洗液所含固体物质的质量)。每组试验重复测定 6 次, 取平均值。

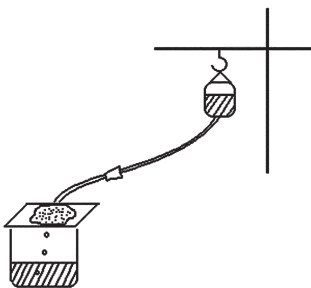


图3 胃组织留存量的测定装置

Fig 3 Measurement device of remaining percentage in stomach tissue

3 结果

3.1 剪切力的测定结果

3.1.1 相同质量分数的白及胶溶液和 CP934 溶液的剪切力比较 2% 白及胶溶液的剪切力为 (1.38 ± 0.35) N, 2% CP934 溶液的剪切力为 (0.56 ± 0.09) N, 两者有极显著性差异 ($P < 0.01$), 白及胶溶液的剪切力是 CP934 的 2 倍。

3.1.2 不同质量分数的白及胶溶液的剪切力比较 质量分数为 4%、6%、8%、10% 白及胶溶液的剪切力分别为 (1.02 ± 0.14) 、 (1.07 ± 0.12) 、 (1.21 ± 0.09) 、 (1.02 ± 0.07) N, 四者之间

无统计学差异 ($P > 0.05$)。但 2% 白及胶溶液的剪切力为 (1.38 ± 0.35) N, 与上述 4 种溶液的剪切力之间均有统计学差异 ($P < 0.05$), 表明 2% 白及胶溶液的剪切力比 4%~10% 白及胶溶液的剪切力大。

3.1.3 相同质量分数、不同 pH 值的白及胶溶液的剪切力比较 pH 6.8 的 2% 白及胶溶液的剪切力为 (1.79 ± 0.43) N, 显著大于 pH 1.0 的 2% 白及胶溶液的剪切力 (1.38 ± 0.35) N ($P < 0.05$), 表明环境的 pH 值对白及胶溶液的剪切力有显著影响。

3.2 分离力的测定结果

白及胶对胃黏膜的分离力为 (0.23 ± 0.03) N, CP934 对胃黏膜的分离力为 (0.20 ± 0.02) N, 两者无统计学差异 ($P > 0.05$), 表明白及胶与 CP934 对胃黏膜分离力的影响没有差异。

3.3 胃组织留存量的测定结果

白及胶在胃黏膜上的留存量为 $(96.0 \pm 4.2)\%$, CP934 在胃黏膜上的留存量为 $(93.1 \pm 6.3)\%$, 两者无统计学差异 ($P > 0.05$), 表明白及胶与 CP934 在胃黏膜上的留存量相当。

4 讨论

生物黏附性能评价的方法较多, 但尚未形成公认的评价标准。常见的体外试验方法有: 黏附力测试试验、灌流冲洗技术、流变学试验法、表面能分析技术等^[8]。生物黏附性的体外试验可用于初步筛选生物黏附材料, 也可用于阐明生物黏附的机制, 但体外结果不能完全反映聚合物在体内的滞留时间等黏附特性, 对生物黏附制剂的最终评价还须由体内实验来证实。

白及胶系白及经水提醇沉得到的一种黏液质, 为白色或黄棕色、无味、无臭的粉末, 可溶于水形成黏性溶液, 不溶于乙醇, 属黏多糖高分子化合物, 由 4 分子甘露糖和 1 分子葡萄糖聚合而成, 凝胶过滤法测得其平均相对分子质量为 183 000^[9], 黏度法测定其黏均分子量为 2 881 000^[11]。白及胶在作为药用基质和药物载体等方面独具特点, 可延长主药的滞留时间, 降低所载药物的毒性, 价格低廉, 资源丰富, 在制备靶向给药系统或缓释、控释制剂方面有较高的开发价值^[11]。

笔者通过剪切力、分离力、胃组织留存量三种体外试验方法考察白及胶的生物黏附性, 并以常用的生物黏附材料 CP934 作对照。结果表明, 白及胶与 CP934 有相似的生物黏附性能, 2% 白及胶溶液的剪切力是 2% CP934 溶液的 2 倍, 说明白及胶是一种较好的天然生物黏附性材料, 且白及胶的黏附性与其质量分数及 pH 值有关。

分离力的测量可以间接反映聚合物与生物黏膜组织的亲和力, 但对于具有较强生物黏附作用的材料, 断裂常不是发生在黏附材料与生物组织的界面处, 且精密度和重现性不够好。胃组织留存量也是反映聚合物与生物黏膜组织亲和力的一个指标, 测量成功的关键在于胃组织表面尽量保留黏液层。大鼠胃黏膜的表面积有限, 能承载的药物质量有限, 应选用分析天平称质量, 以保证试验的可靠性和重现性。三种体外黏附性的评价方法均可较好评价白及胶的黏附性, 其中胃组织留存量的测定方法与体内实验评价拟合更好, 且操作简单、重现性好, 可作为下一步白及胶制剂的黏附性的评价方法。

参考文献

- [1] 王小惠. 提取白及胶方法的探讨[J]. 中国药学杂志, 1982, 17(12): 59.
- [2] Chary RB, Vani G, Rao YM. *in vitro* and *in vivo* adhesion testing of mucoadhesive drug delivery systems[J].

正交试验优选南山茶花中总黄酮的提取工艺[△]

尚志春*,王宝昌,张微微,彭倩,唐玲,王永奇,史丽颖[#](大连大学药物研究所,辽宁大连 116622)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2526-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.11

摘要 目的:优选南山茶花中总黄酮的提取工艺。方法:采用乙醇-水提取法从南山茶花中提取总黄酮,在单因素试验基础上,选取乙醇体积分数、提取时间、提取温度、料液比为考察因素,以总黄酮收率为评价指标,采用正交试验优选工艺。结果:总黄酮的最佳提取工艺为用20倍量的85%乙醇,95℃下提取2次,每次3h。在此条件下,总黄酮收率为1.52%。结论:优选的提取工艺合理、可行,可用于南山茶花中总黄酮的提取。

关键词 南山茶花;总黄酮;提取工艺;正交试验

Optimization of Extraction Technology of Total Flavonoids from the Flowers of *Camellia semiserrata* by Orthogonal Test

SHANG Zhi-chun, WANG Bao-chang, ZHANG Wei-wei, PENG Qian, TANG Ling, WANG Yong-qi, SHI Li-ying (Institute of Materia Medica of Dalian University, Liaoning Dalian 116622, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology for total flavonoids from the flowers of *Camellia semiserrata*. METHODS: The total flavonoids were extracted from the flowers with EtOH-H₂O. The extraction technology was optimized by orthogonal test with ethanol concentration, extraction time, extraction temperature and ratio of material to liquid as factor using yield of total flavonoids as index. RESULTS: The optimal extraction technology was as follows: 20-fold 85% ethanol, extracting 2 times at 95℃ for 3 hours. By this technology, the yield of total flavonoids was 1.52%. CONCLUSIONS: Optimized technology was reasonable and feasible, which can be applied for the extraction of total flavonoids from the flowers of *C. semiserrata*.

KEY WORDS *Camellia semiserrata*; Total flavonoids; Extraction technology; Orthogonal test

南山茶为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)植物,分布于广西东南部至广东西南部海拔250~500m的山地,资源丰富^[1]。笔者前期的实验研究表明,南山茶种子中的黄酮类化合物为抗骨质疏松的有效成分^[2],因此本研究在单因素试验的基础上,以南山茶中总黄酮收率为指标,利用正交试验优选总黄酮的提取工艺。

1 材料

1.1 仪器

Unico720可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]; Laborata4000旋转蒸发仪(德国Heidolph公司);BP210S十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);HH24水浴锅(常州国华电器有限公司);DZF26021真空干燥箱(上海精宏实验设备

Drug Dev Ind Pharm, 1999, 25(5):685.

- [3] Alur HH, Beal JD, Pather SI, *et al.* Evaluation of a novel, natural oligosaccharide gum as a sustained and mucoadhesive component of calcitonin buccal tablets[J]. *J Pharm Sci*, 1999, 88(12):1313.
- [4] 周寅琦,张文玉,周翔.替硝唑口腔黏附片的生物黏附性和体外释药研究[J]. *中国药科大学学报*, 2001, 32(2):102.
- [5] 丁劲松,蒋学华,程泽能.萘哌地尔生物黏附性缓释胶囊处方及体外黏附力测定[J]. *中国医药工业杂志*, 2003, 34

- (9):448.
- [6] 史中,侯惠民.重组人表皮生长因子生物黏附剂的体外黏附力评价[J]. *中国医药工业杂志*, 2000, 31(2):82.
- [7] 陆伟跃,潘俊,刘敏.阿昔洛韦生物黏附微球的动物胃黏膜表面黏附能力和体外释放效果[J]. *中国药学杂志*, 2000, 35(5):313.
- [8] 王健,毕殿洲.生物黏附材料的研究进展[J]. *沈阳药科大学学报*, 2002, 19(5):373.
- [9] 芦金清,张亚东.白及胶的实验研究[J]. *中成药*, 1996, 18(12):2.
- [10] 高俊德.白及成分葡聚糖的研究[J]. *中药通报*, 1982, 7(5):30.
- [11] 葛勤,刘同华,黄林清,等.中药白及作为血管栓塞剂及药物载体的研究概况[J]. *中国药房*, 2003, 14(5):305.

(收稿日期:2012-08-06 修回日期:2013-01-06)

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30772714)

* 硕士研究生。研究方向:天然活性物质。E-mail: shang8102016@163.com

[#] 通信作者:副教授,博士。研究方向:天然活性物质。E-mail: shiliying@dlu.edu.cn