

# 尼氟酸结肠靶向小球的制备与体外释药评价<sup>△</sup>

鄢雪梨\*, 黄仁杰#, 肖健(福建卫生职业技术学院药学系, 福州 350101)

中图分类号 R944.2;R971<sup>+</sup>.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)15-2054-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.15.09

**摘要** 目的:制备尼氟酸结肠靶向小球,并进行体外释药评价。方法:将尼氟酸包载于D- $\alpha$ -维生素E聚乙二醇1000琥珀酸酯(TPGS1000)中形成纳米胶束,考察尼氟酸纳米胶束的包封率、载药量、粒径、Zeta电位和多分散系数(PDI)。再采用锐孔-凝固法将纳米胶束包裹于低酯果胶中形成尼氟酸结肠靶向小球,观察尼氟酸结肠靶向小球的外观形态,计算其粒径和跨距。比较尼氟酸纳米胶束和尼氟酸结肠靶向小球依次在人工胃液(2 h)、人工小肠液(3 h)和人工结肠液(3 h)中的释药情况。结果:尼氟酸纳米胶束包封率为(93.42 $\pm$ 2.33)%、载药量为(8.54 $\pm$ 0.36)%( $n=3$ ),粒径为(25.8 $\pm$ 0.6) nm、Zeta电位为(-18.73 $\pm$ 0.23) mV( $n=20$ ),PDI为0.25。尼氟酸结肠靶向小球外形圆整,表面纹理粗糙,其粒径为(1.33 $\pm$ 0.14) mm( $n=3$ ),跨距为0.26。尼氟酸纳米胶束在前5 h内的累积释药度已超过60%,而尼氟酸结肠靶向小球在前5 h内的累积释药度<30%,二者8 h内的累积释药度均>80%。结论:该制备方法简单可行,成功制得具有良好的结肠靶向性能的尼氟酸小球。

**关键词** 尼氟酸;纳米胶束;D- $\alpha$ -维生素E聚乙二醇1000琥珀酸酯;结肠靶向小球;制备;体外释药

## Preparation and *in vitro* Drug Release Evaluation of Niflumic Acid Colon-targeted Delivery Beads

YAN Xueli, HUANG Renjie, XIAO Jian(Dept. of Pharmacy, Fujian Health College, Fuzhou 350101, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Niflumic acid colon-targeted delivery beads, and to evaluate *in vitro* drug release. METHODS: Niflumic acid-loaded nanomicelles were prepared with D- $\alpha$ -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS1000) as carrier material. Entrapment efficiency, drug-loading amount, particle size, Zeta potential and polydispersity coefficient (PDI) of Niflumic acid-loaded nanomicelles was investigated. The nanomicelles were encapsulated into pectin by using piercing-solidifying method to form Niflumic acid colon-targeted delivery beads. The morphology of Niflumic acid colon-targeted delivery beads was observed, and particle size and span was calculated. The drug release of Niflumic acid-loaded nanomicelles and Niflumic acid colon-targeted delivery beads in artificial gastric juice (2 h), artificial intestinal fluid (3 h) and artificial colon fluid (3 h) were compared. RESULTS: The encapsulation efficiency of Niflumic acid-loaded nanomicelles was (93.42 $\pm$ 2.33)%, drug-loading amount was (8.54 $\pm$ 0.36)%; particle size was (25.8 $\pm$ 0.6) nm ( $n=3$ ); Zeta potential was (-18.73 $\pm$ 0.23) mV ( $n=20$ ); PDI was 0.25. Niflumic acid colon-targeted delivery beads were round in appearance and rough in texture; the particle size was (1.33 $\pm$ 0.14) mm ( $n=3$ ) and span was 0.26. Accumulative release rate of Niflumic acid-loaded nanomicelles was more than 60% within first 5 h. Accumulative release rate of Niflumic acid colon-targeted delivery beads was lower than 30% within first 5 h, and accumulative release rate were both higher than 80% in 8 h. CONCLUSIONS: The preparation method is simple and reliable. Niflumic acid colon-targeted delivery beads are prepared successfully.

**KEYWORDS** Niflumic acid; Nanomicelles; D- $\alpha$ -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate; Colon-targeted delivery beads; Preparation; *in vitro* drug release

尼氟酸(Niflumic acid)又名尼氟灭酸,是一种非甾体抗炎镇痛药,临床上多用于风湿性疼痛等躯体痛的治疗,其常用剂型是片剂、胶囊剂、栓剂。近年研究发现,尼氟酸是超极化激活环核苷酸门控阳离子通道2亚型(HCN2)的特异性阻滞药,能选择性作用于HCN2 S4电压敏感区域的外区,从而改变起搏通道的门控作用<sup>[1]</sup>,而HCN2通道在躯体炎性疼痛与神经病理性疼痛中发挥重

要作用<sup>[2-3]</sup>。同时,有研究发现,HCN2蛋白在肠易激综合征(IBS)大鼠内脏痛觉相关中枢上的表达显著增强<sup>[4]</sup>,呈剂量依赖性抑制其内脏痛觉敏化行为,可提高其内脏痛阈<sup>[5]</sup>,显著抑制IBS大鼠海马突触长时程增强<sup>[6]</sup>。这些研究结果均一致表明HCN2可能参与IBS慢性内脏痛觉敏化的形成,提示尼氟酸可能具有改善IBS内脏痛的新作用。

尼氟酸经口服给药具有一定的胃肠道不良反应及肾脏毒副作用。但口服结肠靶向给药系统具有定位释药特点,可提高药物的治疗效果、减少其副反应<sup>[7]</sup>。因此口服结肠靶向给药系统可作为尼氟酸理想的药物传递系统。有研究表明,减小粒径可使药物具有炎症肠道细

<sup>△</sup> 基金项目:福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目(No.2013-ZQN-JC-13)

\* 实验师。研究方向:药物分析与检测。电话:0591-22869830。E-mail:1219128159@qq.com

# 通信作者:副教授,硕士。研究方向:药物新剂型研究与开发。电话:0591-22869830。E-mail:hrj2@163.com

胞的上皮增强通透性和滞留效应(eEPR)<sup>[8-9]</sup>,避免腹泻外排<sup>[10]</sup>以及多孔性吸附<sup>[11]</sup>等作用,能有效提高药物的结肠靶向性。因此,本课题组拟将尼氟酸包载于D- $\alpha$ -维生素E聚乙二醇1000琥珀酸酯(TPGS1000)中形成纳米胶束,并进一步采用锐孔-凝固法将纳米胶束包裹于低酯果胶中形成小球<sup>[12]</sup>,从而减少尼氟酸纳米胶束在胃和小肠中的释放量,提高制剂的结肠靶向性能。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); Nova-Nano-SEM230 扫描电镜和 Tecnai G2 20ST 透射电镜(美国 FEI 公司); Nicomp 380ZLS 粒度检测分析仪(美国 PSS 公司); SCP85H 超速离心机(日本日立公司); 透析袋(北京拜尔迪生物技术有限公司,截留分子量:8 000~14 000 Da)。

### 1.2 药品与试剂

尼氟酸对照品(批号:140822,纯度:>98%)、TPGS1000(批号:130610)、低酯果胶(批号:141021,酯化度:28%)、聚乙烯亚胺(PEI,批号:140715)、嗜酸性粒细胞阳离子蛋白(ECP,批号:160529)、转铁蛋白(TRF,批号:160311)均购自美国 Sigma 公司;乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 尼氟酸结肠靶向小球的制备

2.1.1 尼氟酸纳米胶束 按药载质量比为1:10,分别精密称取尼氟酸和TPGS1000,加入适量甲醇振荡溶解,于40℃下旋转蒸发除去甲醇,形成均匀薄膜,加入50 mL pH 7.4的磷酸盐缓冲液(PBS),37℃下超声(240 W,40 kHz)振荡水化至薄膜溶解,再依次用0.2、0.1  $\mu\text{m}$ 的聚碳酸酯膜过滤,各重复3次,冻干备用。

2.1.2 尼氟酸结肠靶向小球 在文献[12]的基础上,按纳米胶束冻干粉与低酯果胶的质量比为1:10进行投料,将低酯果胶分次撒入纯化水中,溶解制成8%的溶液,再加入尼氟酸纳米胶束冻干粉,搅拌混悬均匀,随即用6号注射针头将此混合液滴入至缓慢搅拌的10%氯化钙溶液中,固化30 min,过滤,于60℃烘干,再将小球浸泡在1.0%PEI溶液中,交联6 h,过滤,纯化水洗涤后于60℃烘干,即得。

### 2.2 尼氟酸的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Wondasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ );流动相:0.05 mol/L 醋酸铵溶液-乙腈(40:60, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:288 nm;柱温:30℃;进样量:20  $\mu\text{L}$ <sup>[13]</sup>。

2.2.2 线性关系考察 精密称取尼氟酸对照品适量,置于10 mL量瓶中,用甲醇稀释定容,摇匀,制得质量浓度分别为1.25、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列对照品溶液。按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面

积,以质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得回归方程为 $y=2.335x+0.119$ ( $r=0.9995$ )。结果表明,尼氟酸检测质量浓度的线性范围为1.25~50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2.3 精密度的试验 取质量浓度为10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的尼氟酸对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件,分别于同日内连续进样测定6次考察日内精密度的,每日测定1次,连续测定6 d考察日间精密度的。结果显示,峰面积的日内RSD和日间RSD分别为1.3%和2.1%( $n=6$ ),表明该方法精密度的良好。

2.2.4 溶液稳定性试验 精密量取同一批次的尼氟酸结肠靶向小球适量,加入适量含有2%果胶酶的人工结肠液(pH为6)<sup>[12]</sup>超声振荡10 min,4 000 r/min(离心半径10 cm)离心10 min,收集上清液,重复3次,合并上清液,用甲醇定容至50 mL,摇匀,再稀释10倍制备成供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件,分别于0、6、12、24 h进样测定,记录峰面积。结果显示,峰面积的RSD为1.5%( $n=4$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 精密量取同一批次的尼氟酸结肠靶向小球,按“2.2.4”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算含量。结果显示,尼氟酸结肠靶向小球中尼氟酸平均含量为8.23 mg/g,RSD=1.98%( $n=6$ )。

2.2.6 回收率试验 精密量取空白小球研磨成细粉,分别精密称取适量于量瓶中,按尼氟酸最终质量浓度为8、10、12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 分别加入尼氟酸对照品,每个浓度水平3份,加入适量含有2%果胶酶的人工结肠液(pH为6)超声振荡10 min,按“2.2.4”项下方法制备成供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,计算加样回收率。结果显示,平均加样回收率为97.67%,RSD=2.53%( $n=9$ ),表明该方法准确度较好。

2.2.7 含量测定 取3批尼氟酸结肠靶向小球,研磨成细粉,分别精密称取0.8 g,各3份,加入适量含有2%果胶酶的人工结肠液(pH为6)超声振荡10 min,按“2.2.4”项下方法制备成供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,计算含量。结果显示,样品中尼氟酸的含量为(8.37±0.24) mg/g( $n=3$ )。

### 2.3 尼氟酸纳米胶束的质量控制

2.3.1 包封率 采用反透析法,精密称取已知含量的尼氟酸纳米胶束,置于50 mL PBS(pH为7.4)中,另将装有2 mL PBS的透析袋两端扎紧后置于其中进行反透析,4 h后取袋内的溶液0.5 mL,以甲醇稀释定容至10 mL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按公式计算包封率(EE)<sup>[14]</sup>: $EE(\%) = (c_{\text{total}} \times 50 - c_{\text{free}} \times 52) / (c_{\text{total}} \times 50) \times 100\%$ ,式中 $c_{\text{total}}$ 为尼氟酸纳米胶束溶液中的尼氟酸的质量浓度, $c_{\text{free}}$ 为游离尼氟酸的质量浓度,50为透析袋外溶液的体积,52为透析袋内外溶液的总体积。结果

显示,尼氟酸纳米胶束的包封率为 $(93.42 \pm 2.33)\%$  ( $n=3$ )。

**2.3.2 载药量** 将“2.3.1”项下经反透析后的胶束溶液进行冷冻干燥,称其质量 $M$ ,按公式计算载药量(LC), $LC(\%) = (c_{total} \times 50 - c_{free} \times 52) / (M - c_{free} \times 50) \times 100\%$ 。结果显示,尼氟酸纳米胶束的载药量为 $(8.54 \pm 0.36)\%$  ( $n=3$ )。

**2.3.3 粒径和Zeta电位** 取适量尼氟酸纳米胶束,用纯化水稀释10倍,混匀,经 $0.22 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤。使用粒度检测分析仪测定胶束的粒径和Zeta电位。每个样品测定20个循环时间,测定温度设定为 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ <sup>[15]</sup>。结果表明,尼氟酸纳米胶束的粒径较小且分布较窄,平均粒径为 $(25.8 \pm 0.6) \text{ nm}$ 、Zeta电位为 $(-18.73 \pm 0.23) \text{ mV}$  ( $n=20$ ),多分散系数(PDI)为0.25,表明尼氟酸纳米胶束的分散度良好。尼氟酸纳米胶束的粒径分布图见图1。

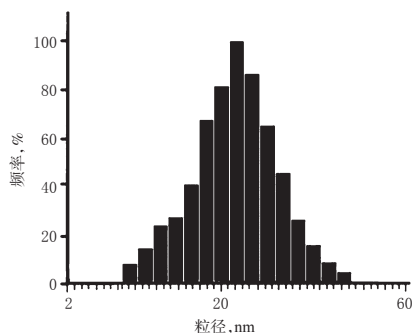


图1 尼氟酸纳米胶束的粒径分布图

Fig 1 Particle size of Niflumic acid nanomicelles

**2.3.4 形态** 取适量尼氟酸纳米胶束,用纯化水进行稀释,经 $0.22 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤后,将铺有碳膜的铜网漂放在纳米胶束溶液上,1~2 min后取出铜网,用滤纸从铜网边缘吸干多余液体。将铜网漂放在1%醋酸双氧铀染液上约1 min,取出,同样用滤纸吸干多余液体。室温放置过夜后,将晾干的铜网放入透射电镜仪,在加速电压160 kV下观察纳米胶束外部形态<sup>[15]</sup>。结果显示,尼氟酸纳米胶束均为球形,外观圆整,粒径均一,大约在20~30 nm之间,粒径大小与粒度检测分析仪测得的结果一致。尼氟酸纳米胶束的形态见图2。

## 2.4 尼氟酸结肠靶向小球的粒径与形态

随机抽取100粒尼氟酸结肠靶向小球,分批置于载玻片上,用显微镜进行观察,通过Motic image plus 2.0图像分析软件逐一进行粒径测定(标尺经校正),用Excel 2003软件计算平均值。经对数正态分布拟合后,求 $D_{90}$ 、 $D_{50}$ 、 $D_{10}$ ,按公式计算跨距(SD): $SD = (D_{90} - D_{10}) / D_{50}$ 。结果显示,尼氟酸结肠靶向小球的平均粒径为 $(1.33 \pm 0.14) \mu\text{m}$  ( $n=3$ ),跨距为0.26。

另将干燥的尼氟酸结肠靶向小球喷金粉后用导电胶黏在样品台上,用扫描电镜观察小球形态特征。结果

显示,尼氟酸结肠靶向小球外形圆整,表面纹理粗糙,已形成PEI疏水层。尼氟酸结肠靶向小球的电镜扫描图见图3。

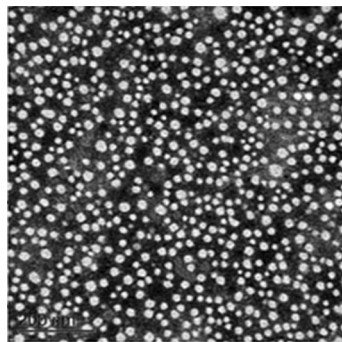
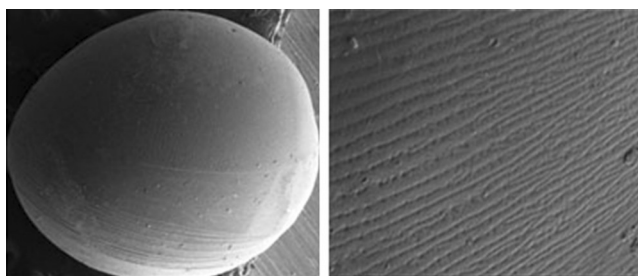


图2 尼氟酸纳米胶束的形态( $\times 100\ 000$ )

Fig 2 Morphology of Niflumic acid-loaded nanomicelles ( $\times 100\ 000$ )



A. 尼氟酸结肠靶向小球( $\times 150$ ) B. 尼氟酸结肠靶向小球表面( $\times 1\ 000$ )

图3 尼氟酸结肠靶向小球的电镜扫描图

Fig 3 SEM of Niflumic acid colon-targeted delivery beads

## 2.5 尼氟酸纳米胶束的体外黏附性试验

参照文献[16]方法,并进行适当改进。称取10 mg尼氟酸纳米胶束,置于含0.1 mg/mL的ECP和TRF的PBS中,以100 r/min在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中振荡,分别于30、60、90、180 min取样,10 000 r/min(离心半径10 cm)离心30 min,取上清液适量,经甲醇处理后,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,按公式计算黏附率(MBE): $MBE(\%) = (c_0 - c_s) / c_0 \times 100\%$ ,式中 $c_0$ 为初始尼氟酸的质量浓度, $c_s$ 为上清液中尼氟酸的质量浓度。结果显示,尼氟酸纳米胶束的黏附率随时间呈逐渐上升趋势,最高值达到94.5%,说明该胶束与阳离子蛋白之间有很好的黏附作用。尼氟酸纳米胶束的黏附率曲线见图4。

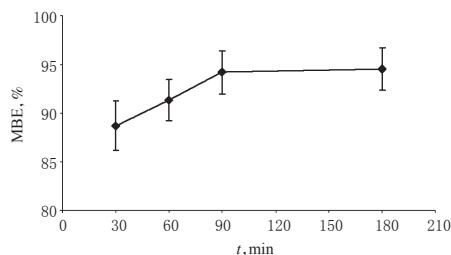


图4 尼氟酸纳米胶束的黏附率曲线

Fig 4 Adhesion rate curve of Niflumic acid-loaded nanomicelles

## 2.6 尼氟酸结肠靶向小球的溶胀-溶蚀性能

称取 100 mg 尼氟酸结肠靶向小球,混悬于装有人工胃液[pH 为 1.2, 预热至  $(37 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ ]的试管中,将试管置于  $(37 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$  恒温水浴振荡箱中 100 r/min 振荡 2 h; 之后将介质依次替换为人工小肠液(pH 为 6.8)、含 2% 果胶酶的人工结肠液(pH 为 6),分别振荡 3 h。每隔 1 h 从试管中取出所有尼氟酸结肠靶向小球,用滤纸吸去其表面多余的水分后称质量。按公式计算尼氟酸结肠靶向小球的溶蚀率(SER)<sup>[17]</sup>:  $\text{SER}(\%) = (W_T - W_0) / W_0 \times 100\%$ , 式中  $W_T$  为各取样点尼氟酸结肠靶向小球的质量;  $W_0$  为初始干燥后尼氟酸结肠靶向小球的质量。结果显示,尼氟酸结肠靶向小球在人工胃液中吸水膨胀过程缓慢;在人工小肠液中 3 h 的溶胀达到最大程度,但小球的外观仍保持完整,未出现明显的溶蚀现象;而在含果胶酶的人工结肠液中,小球溶蚀率逐渐下降,出现溶蚀现象,提示尼氟酸纳米胶束开始从小球中释放出来。尼氟酸结肠靶向小球的溶胀-溶蚀曲线见图 5。

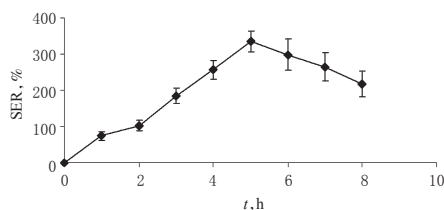


图 5 尼氟酸结肠靶向小球的溶胀-溶蚀曲线

Fig 5 Swelling-release curve of Niflumic acid colon-targeted delivery beads

## 2.7 体外释放研究

2.7.1 尼氟酸纳米胶束 取已知含量的尼氟酸纳米胶束 20 mg 与 2 mL PBS(pH 为 7.4)混合,装入预先处理好的透析袋中,并将透析袋置于人工胃液(pH 为 1.2)中,  $(37 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$  恒温下振荡(100 r/min) 2 h; 之后将介质依次替换为人工小肠液(pH 为 6.8)振荡 3 h 和含 2% 果胶酶的人工结肠液(pH 为 6)振荡 3 h<sup>[12,18]</sup>。定时取样 1 mL,并同时补充等温等量的对应介质,取样液经 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤,取续滤液经甲醇处理后,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算尼氟酸纳米胶束中尼氟酸的累积释放度,并绘制释药曲线。结果显示,尼氟酸纳米胶束在前 5 h 内(人工胃液和人工小肠液)累积释放度已超过 60%,说明该纳米胶束在未进入结肠部位前已释放大部分尼氟酸,结肠靶向性不显著。

2.7.2 尼氟酸结肠靶向小球 称取适量的尼氟酸结肠靶向小球按“2.7.1”项下方法依次置于人工胃液、人工小肠液、含 2% 果胶酶的人工结肠液中,同法处理,计算尼氟酸结肠靶向小球中尼氟酸的累积释放度。结果显示,尼氟酸结肠靶向小球在人工胃液和人工小肠液中释药缓慢,且累积释放度低于 30%,说明尼氟酸纳米胶束得到较好的保护,没有释放出大部分的尼氟酸;而在含果

胶酶的人工结肠液中,小球溶胀之后释药加快,3 h 后基本释药完全,累积释放度大于 80%,说明小球包载尼氟酸纳米胶束之后明显提高了药物的结肠靶向性。尼氟酸纳米胶束和尼氟酸结肠靶向小球的体外释放曲线见图 6。

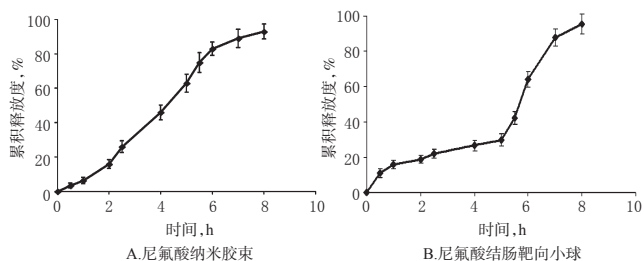


图 6 尼氟酸纳米胶束和尼氟酸结肠靶向小球的体外释放曲线

Fig 6 *In vitro* release curves of Niflumic acid-loaded nanomicelles and Niflumic acid colon-targeted delivery beads

## 3 讨论

TPGS1000 在水溶液中能自发聚集形成胶束,其具有的芳香环结构有利于形成较大的胶束疏水核空间,不仅能有效提高难溶性药物的溶解度,而且对药物有较高的包封率和载药量。此外,结肠炎症组织存在大量带正电荷的嗜酸性粒细胞阳离子蛋白和转铁蛋白<sup>[17]</sup>,以带有负电性的 TPGS1000 作为载体材料的胶束可通过静电作用而黏附于结肠炎症组织,可延长药物在病灶区的滞留时间。体外黏附性试验结果亦初步证实这一想法,进一步的体内黏附性实验将在后续试验中开展。

尼氟酸纳米胶束在胃肠道中的大量水分和酶类物质的作用下,可能发生纳米胶束的结构破坏或表面电荷改变等不稳定现象。为此,课题组进一步将尼氟酸纳米胶束包裹在以低酯果胶为载体的小球中,在胃肠道中发挥保护作用,而结肠部位的果胶酶促进小球降解释放出纳米胶束。

考虑到本试验中对制剂的包封率和载药量起到关键作用的是纳米胶束的制备过程,因此,本文仅针对尼氟酸纳米胶束进行这 2 个指标的评价。此外,所设计的制剂中药物释放分为 2 个阶段,在经过胃肠道到达结肠部位后,首先以纳米胶束的形式从结肠靶向小球中释放,而后游离的尼氟酸再从纳米胶束释放出来,试验结果表明符合预期。课题组将进一步开展该制剂在动物体内的药动学过程与药效学研究。

## 参考文献

- [1] CHENG L, SANGUINETTI MC. Niflumic acid alters gating of HCN2 pacemaker channels by interaction with the outer region of S4 voltage sensing domains[J]. *Mol Pharmacol*, 2009, 75(5):1210-1221.
- [2] EMERY EC, YOUNG GT, MCNAUGHTON PA. HCN2

# UPLC法同时测定野菊花中8种活性成分的含量<sup>Δ</sup>

范帅帅<sup>1\*</sup>, 田伟<sup>1,2,3</sup>, 王相<sup>1,2,3</sup>, 高乐<sup>1,2,3</sup>, 田宇柔<sup>1,2,3</sup>, 牛丽颖<sup>1,2,3#</sup>(1.河北中医学院药学院, 石家庄 050091; 2.河北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 石家庄 050091; 3.河北省高校中药配方颗粒应用技术研发中心, 石家庄 050091)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)15-2058-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.15.10

**摘要** 目的:建立同时测定野菊花中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷、芹菜素8种活性成分含量的方法。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>,流动相为0.1%磷酸溶液-乙腈(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,检测波长为335 nm,柱温为35 ℃,进样量为1 μL,样品室温为8 ℃。结果:新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异绿原酸C、木犀草苷、蒙花苷和芹菜素进样量检测线性范围分别为0.140~1.680、2.211~26.532、0.178~2.136、0.056~0.672、0.460~5.520、1.260~15.120、2.725~32.700、0.120~0.144 ng( $r > 0.999 6$ );检测限分别为0.02、0.02、0.02、0.01、0.01、0.01、0.04、0.01 ng,定量限分别为0.06、0.07、0.07、0.03、0.04、0.04、0.13、0.02 ng;精密性、稳定性(10 h)、重复性试验的RSD均<2%( $n=6$ ),平均加样回收率为97.05%~102.04%(RSD为1.03%~1.65%, $n=9$ )。结论:建立的方法分析速度快、灵敏度和分辨率较高、重复性好、结果准确,可用于野菊花中8种活性成分含量的同时测定。

**关键词** 野菊花;超高效液相色谱法;活性成分;含量测定

- ion channels: an emerging role as the pacemakers of pain [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33(8): 456-463.
- [3] EMERY EC, YOUNG GT, BERROCOSO EM, et al. HCN2 ion channels play a central role in inflammatory and neuropathic pain[J]. *Science*, 2011, 333(6048): 1462-1466.
- [4] 刘翠英. ZD7288对内脏痛大鼠痛觉敏感性的抑制作用及其机制[D]. 福州: 福建医科大学, 2009.
- [5] 卢大力. 尼氟酸对大鼠慢性内脏高敏感形成的抑制作用[D]. 福州: 福建医科大学, 2010.
- [6] 祝福存, 陈瑜, 林春, 等. 尼氟酸抑制慢性内脏痛大鼠海马CA1区突触长时程增强[J]. *神经解剖学杂志*, 2012, 28(2): 151-156.
- [7] 刘辉, 潘卫三. 口服结肠靶向给药系统研究进展[J]. *中国药师*, 2008, 11(2): 167-169.
- [8] SCHMIDT C, LAUTENSCHLAEGER C, COLLNOT EM, et al. Nano- and microscaled particles for drug targeting to inflamed intestinal mucosa: a first in vivo study in human patients[J]. *J Control Release*, 2013, 165(2): 139-145.
- [9] COLLNOT EM, ALI H, LEHR CM. Nano- and microparticulate drug carriers for targeting of the inflamed intestinal mucosa[J]. *J Control Release*, 2012, 161(2): 235-246.
- [10] BELOQUI A, COCO R, ALHOUAYEK M, et al. Budesonide-loaded nanostructured lipid carriers reduce inflammation in murine DSS-induced colitis[J]. *Int J Pharm*, 2013, 454(2): 775-783.
- [11] PICHAI MV, FERGUSON LR. Potential prospects of nanomedicine for targeted therapeutics in inflammatory bowel diseases[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(23): 2895-2901.
- [12] 黄仁杰, 林国威, 赖成敏, 等. 蝎毒结肠靶向小球的制备及体外评价[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(3): 205-208.
- [13] LEDA K, ATHANASIOS P, ANTONIA P, et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for the evaluation of niflumic acid cross-reactivity of two commercial immunoassays for cannabinoids in urine[J]. *J Anal Toxicol*, 2010, 34(5): 229-232.
- [14] 黄仁杰, 鄢雪梨, 狄万鹏, 等. 尼氟酸钠纳米胶束含量与包封率的测定[J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(2): 261-265.
- [15] 黄仁杰, 鄢雪梨, 陈虎彪. 蛇葡萄素混合纳米胶束的制备及体外评价[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(6): 1054-1058.
- [16] YIN Y, CHEN D, QIAO M, et al. Preparation and evaluation of lectin-conjugated PLGA nanoparticles for oral delivery of thymopentin[J]. *J Control Release*, 2006, 116(3): 337-345.
- [17] DAS S, NG KY. Colon-specific delivery of resveratrol: optimization of multi-particulate calcium-pectinate carrier[J]. *Int J Pharm*, 2010, 385(1/2): 20-28.
- [18] 赵淑敏, 陈文锋, 施晓莹, 等. 口服结肠靶向给药系统的体内外释药性评价方法综述[J]. *中国药房*, 2017, 28(36): 5176-5180.
- (收稿日期: 2018-01-15 修回日期: 2018-06-07)  
(编辑: 邹丽娟)
- Δ 基金项目: 河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2015001); 河北省中医药管理局科研计划项目(No.2017015)
- \* 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制。电话: 0311-89926890。E-mail: 2293007851@qq.com
- # 通信作者: 教授, 硕士生导师, 硕士。研究方向: 中药质量控制与中药药效物质基础。电话: 0311-89926890。E-mail: niuliyiny@163.com