

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.03.025

[http://www.crter.org]

郑健鸿, 林燕月. 治疗溃疡膜材料和载药膜材料的检测指标[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(3): 536-543.

治疗溃疡膜材料和载药膜材料的检测指标

郑健鸿¹, 林燕月²

1 福建医科大学附属闽东医院口腔科, 福建省福安市 355000

2 福安市妇幼保健院口腔科, 福建省福安市 355000

文章亮点:

- 1 口腔溃疡膜材料要求具有抗菌、消炎、止痛作用, 无毒, 无刺激性, 制备简单, 不易被破坏, 不利于细菌和霉菌生长。
- 2 口腔溃疡载药膜材料可以分为合成高分子成膜材料和天然高分子聚合物成膜材料。
- 3 常用于制备口腔溃疡膜的材料有聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素等。
- 4 壳聚糖和中药口腔溃疡膜具有抗菌、抗氧化的作用, 同时可以止血、消炎, 促进溃疡组织愈合, 被广泛应用于制备口腔溃疡膜。

关键词:

生物材料; 生物材料学术探讨; 口腔溃疡; 生物膜材料; 膜材料制备; 口腔黏膜病; 药物浓度; 聚乙烯醇; 羟丙基甲基纤维素; 羧甲基纤维素; 抗生素; 线性关系; 回收率; 黏附力

摘要

背景: 口腔溃疡是由多种原因引起的口腔黏膜常见病, 常以局部用药的治疗为主, 口腔溃疡膜的应用可以将药物直接作用于溃疡创面, 溃疡膜的缓释设计延长了药物的作用时间, 使局部的药物浓度明显增高, 有利于药效的发挥。

目的: 探讨口腔溃疡膜材料及口腔溃疡载药膜材料的制备方法以及检测指标。

方法: 口腔溃疡膜可以通过持续的黏附于溃疡创面, 阻隔口腔唾液及口腔菌群对溃疡创面的侵蚀, 起到阻碍细菌及保护创面的作用。口腔溃疡载药膜材料可分为合成高分子成膜材料和天然高分子聚合物成膜材料。常用于制备口腔溃疡膜的材料有聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素等。

结果与结论: 壳聚糖口腔溃疡膜具有抗菌、抗氧化的作用, 同时可以止血、消炎, 促进溃疡组织愈合的作用。壳聚糖和中药载药膜材料可以使溃疡面积明显缩小, 壳聚糖膜在治疗有效率方面明显高于抗生素膜。口腔溃疡载药膜制备的过程中, 常用高效液相色谱法测定药物浓度, 通过线性关系、回收率试验、黏附力和黏附时间的测量, 分析溃疡载药膜材料作用后局部的药物浓度、作用时间以及黏附情况。

郑健鸿, 男, 1982年生, 福建省福安市人, 汉族, 2005年山东大学毕业, 医师, 主要从事口腔医学方面的研究。

yuhedong@163.com

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2013)03-00536-08

收稿日期: 2012-10-29

修回日期: 2012-12-10

(20121029007/LYL · C)

Ulcer treatment with membrane materials and drug loading membrane materials: Detection indexes

Zheng Jian-hong¹, Lin Yan-yue²

1 Department of Stomatology, Affiliated Mindong Hospital of Fujian Medical University, Fuan 355000, Fujian Province, China

2 Department of Stomatology, Maternal and Child Health Hospital of Fuan, Fuan 355000, Fujian Province, China

Abstract

BACKGROUND: Oral ulcer is a common disease in the oral mucosa caused by a variety of reasons, which is often treated with local administration. The application of oral ulcer film can apply the drugs directly on the ulcer wounds, and the sustained-release design of the ulcer films can prolong the action duration of the drugs and significantly increase the local drug

Zheng Jian-hong, Department of Stomatology, Affiliated Mindong Hospital of Fujian Medical University, Fuan 355000, Fujian Province, China yuhedong@163.com

Received: 2012-10-29

Accepted: 2012-12-10

concentration, which is conducive to playing the drug's efficacy.

OBJECTIVE: To explore the preparation method and detection index of membrane materials and drug loading membrane materials used for the treatment of oral ulcers.

METHODS: Membranes for mouth ulcers can be continuously adhered onto the ulcer wounds and then block the erosion of saliva and oral flora to ulcer wounds, which play a role in preventing the bacteria against the wound. The drug loading membrane materials can be divided into synthetic polymer materials and natural polymer materials. Materials commonly used in the preparation of mouth ulcer membranes include polyvinyl alcohol, hydroxypropyl methyl cellulose, carboxymethyl cellulose.

RESULTS AND CONCLUSION: Chitosan membranes for mouth ulcers have the advantages of anti-bacteria, anti-oxidation, bleeding, and anti-inflammation, thereby promoting healing of ulcer tissue. The chitosan and Chinese herb loading membrane materials can significantly reduce the ulcer area, and the effect of chitosan membrane is better than that of antibiotics membrane. During the preparation of drug loading membranes for mouth ulcers, high-performance liquid chromatographic method is the commonly used method to detect the drug concentration. The local drug concentration, action time and adhesion are analyzed through the detection of linear relationship, recovery test, adhesion and adhesion time.

Key Words: biomaterials; biomaterial academic discussion; mouth ulcers; biomembrane materials; membrane preparation; oral mucosal diseases; drug concentration; polyvinyl alcohol; hydroxypropylmethyl cellulose; carboxymethyl cellulose; antibiotics; linear relationship; recovery rate; adhesion

Zheng JH, Lin YY. Ulcer treatment with membrane materials and drug loading membrane materials: Detection indexes. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(3): 536-543.

0 引言

口腔溃疡是一种常见的口腔黏膜病,可由多种原因引起,如干槽症或拔牙后的创口愈合不良等。发病部位以唇、颊、舌黏膜为见,表现为溃疡局部剧烈疼痛,影响进食和说话等日常生活,易继发细菌感染。研究发现,口腔中的细菌可以通过唾液检出,主要含有口腔链球菌,其次是韦荣氏菌、奈瑟氏菌、梭杆菌和酵母菌等^[1-3],其中口腔链球菌、韦荣氏菌和奈瑟氏菌均为球菌,韦荣氏菌和奈瑟氏菌为革兰阴性菌^[4-6]。在复发性口腔溃疡的发病过程中,口腔细胞成分也发生变化,链球菌和韦荣氏菌的含量会降低,奈瑟氏菌的含量没有变化,因此,口腔溃疡的发展过程与口腔微环境有着密切的关系^[7]。

在口腔溃疡治疗时,由于口服药物疗程长,起效慢,故选用局部用药,常用的剂型有散剂、软膏剂、糊剂等,但由于口腔中有唾液滞留,会使药剂稀释而失效,口腔溃疡膜的应用可以将药物直接作用于溃疡面,膜材料的缓释设计延长了药物的作用时间,使局部的药物浓度明显增高,有利于药效的发挥。

1 口腔溃疡膜材料的要求和特点

1.1 口腔溃疡膜材料的要求 口腔溃疡膜材料要求具有抗菌、消炎、止痛作用,有利于溃疡面愈合,而且无毒、无刺激性,制备简单,不易被破坏,不利于细菌和霉菌生长。以往制备的溃疡膜材料以单层膜为主,由于在口腔中与黏膜的附着力差,应用后药物通过唾液扩散到整个口腔,不利于将药物集中作用于局部患处。双层膜的出现使溃疡膜材料的黏附性明显提高,不易被唾液湿润后脱膜。

1.2 口腔溃疡膜材料的分类及特点 载药膜材料可分为合成高分子成膜材料和天然高分子聚合物成膜材料。合成高分子成膜材料根据其聚合物单体分子结构不同可分为 3 类:①聚乙烯醇类化合物,如聚乙烯醇、聚乙烯吡咯酮、乙烯-醋酸乙烯共聚物。②丙烯酸类共聚物,如甲基聚丙烯、丙烯酸-甲基丙烯酸共聚物。③纤维素衍生物类,如羧甲基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素。合成高分子成膜材料成膜性能良好,成膜后的强度

与韧性能满足膜剂成型与应用要求。目前, 常用于制备口腔溃疡膜的材料有聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素等。

医用聚乙烯醇是极为安全的高分子有机物, 对人体无毒, 无不良反应, 具有良好的生物相容性, 在用作伤口创面敷料和人工关节等方面有广泛应用, 同时在聚乙烯醇薄膜药用膜方面也有使用, 是常用的安全性成膜剂。医用聚乙烯醇材料的性状为黏结剂、悬浮剂和糊剂, 医用聚乙烯醇材料的等级和规格, 见表 1。

表 1 医用聚乙烯醇材料的等级和规格

等级	皂化度(mol%)	黏度(mPa·s)	醋酸钠(%)
聚乙烯醇-05P	86.5-89.0	4.8-5.8	0.15 及更低
聚乙烯醇-05	86.5-89.0	4.8-5.8	0.15 及更低
聚乙烯醇-40	86.5-89.0	40.0-46.0	0.15 及更低

羟丙基甲基纤维素外观为白色或类白色粉末, 溶于水及大多数极性 c 和适当比例的乙醇/水、丙醇/水、二氯乙烷等, 在乙醚、丙酮、无水乙醇中不溶, 在冷水中溶胀成澄清或微浊的胶体溶液。水溶液具有表面活性, 透明度高、性能稳定。具有热凝胶性质, 产品水溶液加热后形成凝胶析出, 冷却后又溶解, 不同规格的产品凝胶温度不同。溶解度随黏度而变化, 黏度越低, 溶解度越大, 不同规格的羟丙基甲基纤维素其性质有一定差异, 在水中溶解不受 pH 值影响。颗粒度为100目通过率大于98.5%, 80目通过率100%, 特殊规格的粒径40-60目。堆密度为0.25-0.70 g, 通常为0.4 g左右, 相对密度1.26-1.31。变色温度为180-200 $^{\circ}C$, 炭化温度为280-300 $^{\circ}C$ 。2%水溶液表面张力为0.42-0.56 mN/cm。羟丙基甲基纤维素随甲氧基含量减少凝胶点升高, 水溶解度下降, 表面活性也下降。羟丙基甲基纤维素还具有增稠能力, 耐盐性低灰粉、 pH 稳定性、保水性、尺寸稳定性、优良的成膜性以及广泛的耐酶性、分散性和黏结性等特点。在生物医药行业主要用途为包衣材料、膜材料、缓释制剂的控速聚合物材料, 还用于稳定剂、助悬剂、片剂黏合剂、增黏剂等。

羧甲基纤维素属阴离子型纤维素醚类, 外观为白色或微黄色絮状纤维粉末或白色粉末, 无嗅无味, 无毒, 易溶于冷水或热水, 形成具有一定黏度的透明溶液。溶液为中性或微碱性, 不溶于乙醇、乙醚、异丙醇、丙酮等有机溶剂, 可溶于含水60%的乙醇或丙酮

溶液。有吸湿性, 对光热稳定, 黏度随温度升高而降低, 溶液在 pH 值2-10时较为稳定, pH 值低于2时有固体析出, pH 值高于10时黏度降低。变色温度为227 $^{\circ}C$, 炭化温度为252 $^{\circ}C$, 2%水溶液表面张力为0.71 mN/cm。有羧甲基取代基的纤维素衍生物, 用氢氧化钠处理纤维素形成碱纤维素, 再与一氯醋酸反应制得。构成纤维素的葡萄糖单位有3个可被置换的羟基, 因此可获得不同置换度的产品。适当黏度的羧甲基纤维素在医药行业被用作片剂的黏合剂、崩解剂, 混悬剂的助悬剂等。羧甲基纤维素钠可作针剂的乳化稳定剂, 片剂的黏结剂和成膜剂, 是安全可靠的抗癌药载体。应用聚乙烯醇、羧甲基纤维素钠、聚羧乙烯按一定比例制成的膜剂为最佳处方, 黏附性及释放速率均增加, 在增加黏膜黏附缓释膜剂的黏附力, 延长制剂在口腔内的滞留时间及制剂中药物的药效都有明显提高。用羧甲基纤维素钠作膜材料, 还能用于皮肤磨削手术创面和外伤性创面。预防腹部手术后腹膜黏连、减少肠梗阻的发生是临床外科最关注的问题之一, 羧甲基纤维素钠减轻术后腹膜黏连程度的作用明显优于透明质酸钠, 可作为一种有效的方法来防止腹膜黏连的发生。羧甲基纤维素钠用于治疗肝癌的导管肝动脉灌注抗癌药中, 可以明显延长抗癌药在肿瘤的滞留时间, 增强抗肿瘤的力, 提高治疗效果。

1.3 口腔溃疡膜的剂型 口腔溃疡膜的使用是借助于膜的黏附作用, 口腔溃疡膜的剂型有以下几种。

口腔贴膜剂:是把药物溶解分散在含生物黏附材料的溶液中, 制成透明、半透明或不透明的薄膜状柔软固体或由惰性材料组成外表面, 防止唾液对药物的溶解, 一般由背衬层、药物储库、限速膜和黏贴层构成。

片剂:是口腔黏附制剂中使用最广泛的剂型, 包括单层片、双层片、核心片等。单层黏附片将药物与黏附辅料混合后制料压片, 药物容量大, 但释放的药物可随唾液进入胃肠道, 多层黏附片有两三层结构, 是将药物和黏附剂组成黏附层, 外覆不含药物的惰性层, 限制药物向黏膜释放。黏附层直接与口腔黏膜接触, 通过调节黏附层的处方, 可调节黏附片在口腔黏膜停留的时间。

凝胶剂:口腔黏膜凝胶剂是以聚丙烯酸和聚甲基丙烯酸类聚合物等高分子材料为胶体材料制成的, 聚合物的用量可显著影响胶体的柔韧性、黏附性及流变性。

喷雾剂:具有分布广、吸收快、减少药物降解的特点。药物可经口腔黏膜吸收入血, 作用时间长。

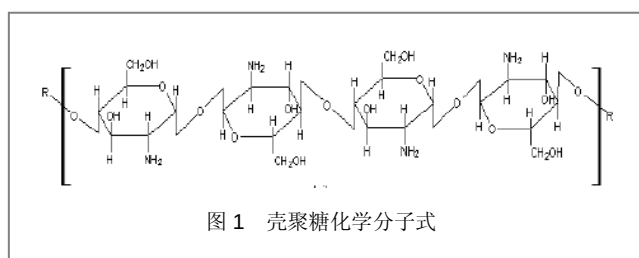
此外, 还包括咀嚼剂、糊剂、散剂、软膏剂、溶液剂、含袋、脂质体及微球等制剂, 咀嚼剂是近年来开发的口腔黏膜给药型, 简单方便, 可控制药物的释放, 改善药物在口腔中的保留时间。

1.4 口腔溃疡膜剂吸收的影响因素 口腔黏膜最外层是上皮, 其下为基底膜, 再下层是固有层和黏膜下组织。基底膜起连接和支持作用, 具有选择性和通透性。固有层为致密结缔组织, 含有丰富的毛细血管和神经末梢。口腔黏膜的渗透屏障是由膜颗粒分离出的细胞间物质造成的, 也有人认为固有层不起渗透屏障作用, 结构不致密, 无法阻挡大分子物质, 而其含水基质利于亲水性物质的通过。

亲水性物质的吸收速度与分子量大小有关, 小分子物质能快速通过黏膜, 通透性随分子量增大而急速下降。对于未电离的化合物, 相对通透性与其油水分配系数有关。

2 壳聚糖口腔溃疡载药膜的特点

2.1 壳聚糖及壳聚糖载药膜材料的特点 壳聚糖是天然存在的几丁质经脱乙酰作用后得到的, 分子式见图1。壳聚糖具有抗菌、抗氧化的作用, 同时可以止血、消炎, 促进溃疡组织愈合的作用。而且壳聚糖的生物相容性良好, 无毒, 无刺激性, 还具有良好的成膜性、柔韧性和高黏附性, 被广泛应用于制备口腔溃疡膜的辅助材料^[13]。



陈伟等^[14]制备口腔溃疡膜辅料, 以膜的外观、黏附力、口腔中保留时间及溶解时间作评价指标。发现外观要选择光洁平整, 色泽较为均匀的材料。黏附力测定的方法是将两块平台中的一块连接到天平的称物盘下, 另一平台固定在实验台上, 将膜剂用30 μ L蒸馏水润湿30 s后旋转在有黏附材料的平台中间压紧, 持续2 min的时间, 在天平的另一托盘中加砝码, 直到两平台的剥离, 断裂时的力为黏附力。溶解时间测定是将100 mL蒸馏水放入100 mL烧杯搅拌, 将测试膜夹放入水浴中开始计时, 记录膜材料的溶解或破

碎时间。取处方量的辅料分别用蒸馏水充分膨胀。将聚乙烯醇置于85 $^{\circ}$ C-90 $^{\circ}$ C水浴中, 加热溶解完全, 再将羧甲基纤维素钠加入混合均匀, 趁热过滤, 再加入甘油, 搅拌均匀, 得胶浆溶液; 加入研成极细粉的儿茶, 冰片, 加入吐温-80, 再加入溶解在适量水中的低分子壳聚糖, 蒸馏水, 混匀, 60 $^{\circ}$ C保温, 脱气泡, 铺膜, 50 $^{\circ}$ C烘箱干燥。取处方量聚乙烯醇17-88、羧甲基纤维素钠分别用蒸馏水充分膨胀。将聚乙烯醇17-88置于85 $^{\circ}$ C-90 $^{\circ}$ C水浴加热溶解完全, 再将羧甲基纤维素钠加入混合均匀, 趁热过滤, 再加入甘油, 搅拌均匀, 得空白胶浆溶液, 脱气泡后50 $^{\circ}$ C铺在干燥的含药膜上。将铺好的膜剂干燥后脱膜, 得复方低分子壳聚糖单向膜。具体流程图, 见图2。

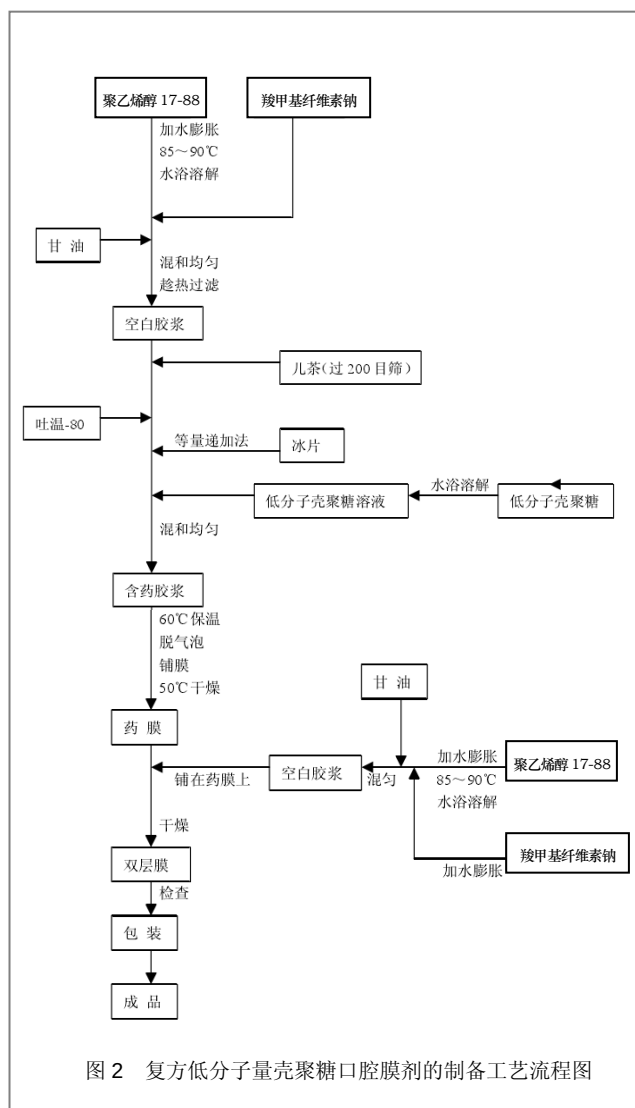


图2 复方低分子量壳聚糖口腔溃疡剂的制备工艺流程图

2.2 壳聚糖口腔溃疡载药膜对溃疡面积的影响 赵志宇等^[15]观察槲皮素壳聚糖复合膜对口腔溃疡及创面组织中超氧化物歧化酶和丙二醛含量的影响, 制备槲皮

素壳聚糖复合膜, 称取一定量的壳聚糖, 溶于 1% 的冰醋酸水溶液中, 得到 4% 的壳聚糖醋酸溶液, 3 000 r/min 离心 30 min 除去杂质即为壳聚糖液, 密封备用。称取一定量槲皮素于乳钵中, 滴加少量无水乙醇搅拌, 溶解后加入上述醋酸壳聚糖溶液, 使其浓度为 1%, 充分搅拌即成复合膜液。用流涎法于玻璃板上制成膜, 室温自然干燥后, 起膜。在紫外线灯下灭菌 15 min, 用直径 0.4 cm 打孔器制成圆型膜片(每片贴膜槲皮素含量为 0.2 mg), 包装密封。将槲皮素壳聚糖复合膜贴于溃疡处, 给药 2 次/d, 直至溃疡完全愈合, 观察复合膜组、壳聚糖组、冰硼散组和空白对照组溃疡面积的影响, 见表 2。创面面积计算公式如下:

$$S = \pi \times (d_1/2) \times (d_2/2)$$

S 为溃疡面积(mm²), π 为圆周率, d_1 为通过溃疡中心量取的最大纵径, d_2 为通过溃疡中心量取的最大横径。

表 2 赵志宇等^[15]研究中槲皮素壳聚糖复合药膜对大鼠口腔溃疡面积的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=20$, mm²)

组别	时间		
	治疗前	治疗后 2 d	治疗后 4 d
复合膜组	26.71±3.21	7.53±1.95 ^{ab}	1.92±0.33 ^{ac}
壳聚糖组	26.72±3.14	20.89±3.53	10.25±3.21
冰硼散组	26.83±2.62	17.02±3.61 ^a	6.32±2.61 ^a
空白对照组	26.32±2.71	24.74±4.91	11.26±4.23

组别	时间		
	治疗后 6 d	治疗后 8 d	治疗后 10 d
复合膜组	0.83±1.16 ^a	0.83±1.16 ^a	0
壳聚糖组	3.25±2.53	1.09±2.17	0
冰硼散组	0.62±0.91 ^a	0.17±0.24 ^a	0
空白对照组	3.90±2.17	1.18±1.20	0.12±0.11

与空白对照组比较, ^a $P < 0.01$; 与冰硼散组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$

由表 2 结果可见, 应用槲皮素壳聚糖复合药膜后, 溃疡面积明显缩小, 各时间点的溃疡面积均小于空白对照组的溃疡面积($P < 0.01$)。槲皮素壳聚糖复合药膜组第 2、4 d 的溃疡面积也小于冰硼散组的溃疡面积($P < 0.05$)。

2.3 壳聚糖口腔溃疡载药膜与其他类型膜材料治疗溃疡的疗效比较 李辉等^[16]应用壳聚糖载药膜与复方硫酸

庆大霉素膜治疗口腔溃疡, 疗效比较见表 3。

表 3 李辉等^[16]研究中壳聚糖载药膜与复方硫酸庆大霉素膜治疗口腔溃疡的疗效比较

材料	病种分类	<i>n</i>	显效 (<i>n</i> /%)	有效 (<i>n</i> /%)	无效 (<i>n</i> /%)	有效率 (%)	总有效率 (%)
壳聚糖载药膜	复合性口腔溃疡	32	17/53.1	10/31.3	5/15.6	84.4	85.1
	疱疹性口腔溃疡	30	14/46.7	11/36.7	5/16.6	83.4	
	创伤性口腔溃疡	25	10/40.0	12/48.0	3/12.0	88.0	
复方硫酸庆大霉素膜	复合性口腔溃疡	23	10/43.5	8/34.8	5/21.7	78.3	82.3
	疱疹性口腔溃疡	21	9/42.9	8/38.1	4/19.0	81.0	
	创伤性口腔溃疡	16	7/43.8	7/43.8	2/12.4	87.6	

3 中药口腔溃疡膜材料的特点

中草药及中西药结合类药物制备的口腔溃疡膜材料具有很好的稳定性和抗菌作用, 相关文献分析见表 4。

表 4 中药载药膜材料制备的相关文献分析

第一作者	主要中药	其它成分	辅料	线性范围 (μg)	回收率 (%)
王芳 ^[17]	蒙脱石	维生素 C	羧甲基纤维素钠	0.08-0.40	98.95
林世和 ^[18]	血竭	人工牛黄, 硼砂, 冰片, 盐酸达克罗宁	羧甲基纤维素钠	0.09-1.08	99.22
白莉 ^[19]	黄芩苷	磷酸, 甘油	壳聚糖, 聚乙烯醇, 海藻酸	-	91.24

王芳等^[17]应用处方为羧甲基纤维素钠 5.8 g, 蒙脱石 1.0 g, 维生素 C 100 mg, 纯化水 200 mL。取羧甲基纤维素钠 1.8 g, 加适量水浸泡过夜, 溶解成胶浆, 备用。取蒙脱石 1.0 g 置于研钵中, 加适量甘油研磨, 使药物润湿, 并加入含维生素 C 100 mg 的水研磨转移至备好的胶浆中, 混合均匀, 再加水使总体积至 50 mL, 搅匀, 超声脱泡, 待气泡除尽后, 制

膜 100 cm^2 , 自然晾干。另取羧甲基纤维素钠 2.0 g , 加适量水浸泡过夜, 溶解后加入甘油, 加水使总体积至 40 mL , 水浴保温脱泡后, 倾于已晾干的药膜表面, 待晾干后裁成 $1.0\text{ cm}\times 1.0\text{ cm}$, 脱膜, 于紫外灯下灭菌 15 min 。此膜剂为乳白色膜状固体, 完整光洁, 厚度一致, 色泽均匀, 无明显气泡。蒙脱石对口腔黏膜表面的各种致病因子有很强的固定和抑制作用, 对溃疡面无刺激性, 患者易于接受, 且食后不进入血液循环, 不影响胃、肝、心血管及神经系统的功能。维生素 C 具有加速溃疡愈合的作用, 通过临床观察无副反应, 安全可靠, 并且有明显的收敛作用, 从而缩短了口腔溃疡的愈合时间。理论上认为通过蒙脱石和维生素 C 的配伍, 一方面固定局部的病菌; 另一方面促进局部组织的修复作用, 双管齐下可以增加疗效, 但这一观点还有待于进一步的临床研究证实。采用高效液相色谱法测定其含量, 回收率符合分析方法的要求, 用该法作为蒙维口腔溃疡膜中维生素 C 含量控制的方法是可行的。

林世和等^[18]用血竭制备口腔溃疡膜, 取膜剂约 1.0 g , 相当于 0.1 g 血竭, 用 1.5 mL 的水润湿, 加 4.0 g 硅藻土分散, 至具塞试管中, 加乙醚 15 mL , 密塞, 超声 10 min , 滤过, 滤液水浴挥干, 残渣加甲醇 3 mL 溶解, 作为供试溶液, 除血竭药材后, 加乙醚 10 mL , 密塞, 振摇 3 min , 滤过, 滤液水浴挥干, 残渣加甲醇 5 mL 溶解, 作为药材对照品溶液。精密称取血竭素高氯酸盐对照品 2.5 mg , 置 5 mL 棕色量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 1 mL 含血竭素高氯酸盐对照品 0.5 mg 的对照品溶液。取血竭素高氯酸盐对照品溶液 $5\text{ }\mu\text{L}$, 其他 3 种溶液各 $10\text{ }\mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(19:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。供试品色谱检测中, 在与对照药材色谱相应的位置上显示相同的橙色斑点, 在与对照品色谱相应的位置上, 显示相同的橙色斑点。在血竭素含量的测定中, 色谱柱为 Vrian C₁₈, 流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(50:50), 检测的波长为 440 nm , 流速为 0.6 mL/min , 柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 理论塔板数以血竭素峰计算应不低于 3 500。准确称取血竭素高氯酸盐 9.0 mg , 置于 50 mL 量瓶中, 加入 3%磷酸甲醇溶液使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。供试品溶液及阴性样品溶液的制备中, 取药膜 2 片, 每片药膜大小为 25 cm^2 , 加水 1.5 mL 润湿, 加硅藻土 2.0 g 分散, 低温干燥,

研匀, 置于 25 mL 量瓶中, 加入适量 3%磷酸甲醇至刻度, 密塞, 超声 30 min , 过滤, 滤液即为供试品溶液。取不含血竭药材的其余药材, 按处方比例和工艺制备方法制备成阴性样品, 并按供试品溶液制备方法制备成阴性样品溶液。系统适应性试验可知, 供试品与对照品溶液均在相同保留时间内出现吸收峰, 血竭素保留时间约为 7.0 min , 阴性样品溶液在血竭素峰位置处无吸收峰, 在相同条件下与其他组分峰分离完全, 且阴性样品无干扰。标准曲线绘制, 精密量取对照品贮备液, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 依次进样, 以峰面积积分值为纵坐标, 血竭素进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归议程为 $Y=2.99\times 10^5X+7.70\times 10^4$, $r=0.999\ 9$, 表明血竭素进样量在 $0.09\text{--}1.08\text{ }\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系。取对照品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$, 连续进样 6 次, 测定其峰面积, RSD 为 1.13%。稳定性试验中, 取对照品溶液, 在室温下棕色瓶中放置, 测得峰面积 RSD 为 1.27%, 表明样品含量在 24 h 内无明显变化。测定其平均回收率为 99.22%, 样品中血竭素平均含量为 0.13%–0.14%, 平均含量为 $163.38\text{--}172.12\text{ }\mu\text{g/片}$ 。膜剂中的羧甲基纤维素钠黏性较大, 在供试品溶液制备中, 比较直接超声, 分散处理后超声处理 30 min 血竭素提取完全。筛选乙腈-水和乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液不同比例、不同流速的多种流动相, 发现乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(50:50), 流速 0.6 mL/min 对血竭素及杂质的分离较满意, 确定为试验色谱条件, 该条件色谱图峰形良好。

白莉等^[19]用黄芩苷制备口腔缓释膜, 黄芩苷是从黄芩根中提取分离出来的黄酮类化合物, 是黄芩苷 C₇ 位羟基与葡萄糖醛酸结合而成的苷, 其结构为 7-D-葡萄糖醛酸-5, 6-二羟基黄酮。黄芩苷具有显著的生物活性, 具有抑菌、止血、清热燥湿、泻火解毒、利胆利尿、降压、镇静、抗炎、抗变态反应、抗癌等作用。采用回流法提取黄芩苷, 用三步法对其进行精制, 黄芩苷的回收率为 91.24%。制备黄芩苷口腔膜, 将 0.720 g 壳聚糖溶于 35 mL 水溶液中, 加冰醋酸, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴充分溶解, 将 1.290 g 海藻酸钠溶于 35 mL 水溶液中, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴充分溶解, 1.0 g 聚乙烯醇加水 30 mL , 于 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴充分溶解, 将 3 种溶液均匀混合, 加水调节体积至 100 mL , 搅拌 30 min , 过滤得混合胶浆。准确称取黄芩苷 0.15 g 于 250 mL 的烧杯中, 用上面所得胶浆

缓慢加入烧杯, 边加边搅拌, 加完后静止脱泡, 取混合液 20 mL 浇注于聚四氟乙烯的洁净板上, 于 30 °C 的红外烘箱内静置 36 h, 小心起膜, 铺于以乙基纤维素为背衬层的薄膜上, 于干燥处保存。黄芩苷口腔膜厚约 0.17 mm, 质地比较均匀, 外观为棕黄色, 因成膜材料有壳聚糖、聚乙烯醇、海藻酸, 口腔膜的黏性较好, 遇水 3 min 后呈胶膏状, 而加入黄芩苷的多少对口腔膜的黏性影响不大, 在老鼠颊膜上的黏附时间为 124 min, 由于口腔的环境比较特殊, 口腔有兼备言语、进食的功能, 124 min 的黏附时间还是比较合适的。同时, 黄芩苷口腔膜由于含有聚乙烯醇, 抗拉力性能很好。含药量为 1.056 mg, 成膜材料略显酸性, 使得黄芩苷不溶, 含药量比较高, 能在 2 h 内释放出大部分的药物, 黄芩苷膜中由于含有壳聚糖, 具有缓释功能, 使释放速度较慢, 在微酸溶液中不好溶, 以凝胶层的溶蚀而释药, 高分子材料聚乙烯醇在常温下水溶性较差, 在释放药物过程中前 70 min, 大部分膜保持完整。在高温试验、高湿度试验和强光试验中, 随着时间的变化对含药量的影响不大, 口腔膜的颜色和 pH 值也没有变化。可见, 无论是在强光下, 还是在高温高湿环境下, 黄芩苷口腔膜的稳定性都很好, 易于保存。

方贤浩等^[20]用活性芦荟口疮缓释药膜治疗口腔溃疡, 通过实验发现活性芦荟膜对口腔细菌有抑菌作用, 无毒性反应, 是安全、无毒的药膜。对动物溃疡模型治疗疗效确切, 溃疡愈合面积结果见表 5。

表 5 方贤浩等^[20]研究中活性芦荟口疮缓释药膜治疗大鼠口腔溃疡的溃疡面积 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$, mm^2)

组别	治疗前	治疗后时间			
		2 d	4 d	6 d	8 d
空白膜组	6.24±0.30	5.21±0.31	4.61±0.30	4.40±0.23	3.10±0.62
西瓜霜组	6.20±0.39	5.54±0.35	3.18±0.63	2.49±0.52	1.64±0.33
低剂量组	6.48±0.23	5.57±0.31	3.44±0.47	2.54±0.46	1.72±0.50
中剂量组	6.48±0.38	5.44±0.44	2.96±0.44	1.65±0.58	0.51±0.48
高剂量组	6.38±0.54	5.56±0.60	3.14±0.61	2.30±0.33	0.96±0.39

活性芦荟口疮缓释药膜治疗 4 d 后高、中、低剂量组及西瓜霜组的溃疡直径缩小, 效果明显优于空白膜组 ($P < 0.01$), 且中剂量组在治疗 6 d 后开始溃疡直径缩小, 效果明显优于西瓜霜组 ($P < 0.01$)。

4 口腔溃疡载药膜材料的检测指标

4.1 药物浓度检测 口腔溃疡载药膜材料的药物浓

度检测常用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC), 哈娜等^[21]应用高效液相色谱法测定口腔溃疡膜中氢化可的松的含量, 色谱柱为 Sinochrom ODS-BP 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相 乙腈-水 (50:50), 波长 245 nm, 流速 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL 。精密称取氢化可的松对照品 52.3 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成氢化可的松对照品贮备液 (氢化可的松浓度为 0.523 g/L)。精密量取对照品贮备液 5 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成氢化可的松对照品供试液。取口腔溃疡膜 5 片, 置于 100 mL 容量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 30 min, 放冷至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。阴性对照溶液的制备按处方量称取处方中除氢化可的松以外的其他药用原料及辅料, 按制备工艺制成不含氢化可的松的阴性供试品, 按照方法操作, 制备阴性对照溶液, 备用。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL , 进样, 色谱条件进行测定, 记录色谱图。

4.2 线性关系 取氢化可的松对照品溶液 (0.104 g/L), 经针头过滤器过滤后进样, 在软件内设置使自动进样器将样品按 2, 4, 8, 10, 12, 15 μL 的体积依次进样, 记录色谱图。以峰面积 (A) 为纵坐标, 氢化可的松对照品进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 拟合回归方程, 得 $A=2.70 \times 10^6 X + 1.67 \times 10^4$, $r=0.999\ 964$ 。氢化可的松进样量在 0.209–1.569 μg 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。精密度试验结果 RSD=0.30%, 显示精密度良好。稳定性试验结果 RSD=0.49%, 显示溶液在 12 h 内稳定。重复性试验显示氢化可的松的平均百分 101.2%, RSD=1.77%, 显示此方法的重复性良好。

4.3 回收率试验 分析精密加入氢化可的松对照品贮备液 (0.523 g/L) 4.0, 5.0 和 6.0 mL, 按高、中、低浓度再分成 3 份, 测得回收率结果见表 6。

4.4 黏附力检测 裴红娜等^[22]采用自制的黏附力测定装置。用塑料袋中水的重量来测定复合膜与生物膜之间的剥离力。将待测膜黏贴于玻片上, 取新鲜的鸡蛋壳膜用缓冲液 6.4 浸泡 10 min 后, 剪取一块黏贴于玻片上, 用少量缓冲液 6.4 将膜 (1 cm×1 cm) 的黏附层润湿后, 迅速将黏有鸡蛋膜的玻片覆盖于其上, 使鸡

蛋膜与复合膜紧密接触, 调整输液流量为2 滴/s, 称量玻片脱落时塑料袋中的水与玻片的总重量, 即为复合膜黏附力的大小。通过自制测量装置测得载药膜的黏附力大小直接影响膜在口腔中的滞留时间, 从而影响药效。因而, 黏附层材料的选择非常重要。

表 6 高效液相色谱法测定口腔溃疡膜中氢化可的松回收率结果
($\bar{x} \pm s$, mm)

序号	加入量 (mg/mL)	测得量 (mg/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	精密度 (%)
1	0.083 68	0.087 23	104.2	102.8	1.59
2	0.083 68	0.086 39	103.2		
3	0.083 68	0.084 52	101.0		
4	0.104 60	0.106 30	101.6	102.4	1.35
5	0.104 60	0.106 30	101.6		
6	0.104 60	0.108 80	104.0		
7	0.125 50	0.128 40	102.3	102.9	0.77
8	0.125 50	0.128 80	102.6		
9	0.125 50	0.130 30	103.8		

4.5 载药膜材料黏附时间 根据药物以及用药目的的不同, 使黏附剂的停留时间不同, 从10 min-24 h不等, 因此, 黏附时间在临床前研究中应根据不同用药情况进行相应的测定。

作者贡献: 郑健鸿进行实验设计、实施及评估, 林燕月进行资料收集、成文, 郑健鸿对实验进行审校并对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验获得所在单位的伦理委员会批注, 符合伦理学标准。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

5 参考文献

[1] 杨圣辉. 实用口腔微生物学[M]. 科学技术文献出版社, 2008:18-19.

[2] Kang JG, Kim SH, Ahn TY. Bacterial diversity in the human saliva from different ages. J Microbiol. 2006;44(5):572-576.

[3] Jeon EH, Han JH, Ahn TY. Comparison of bacterial composition between human saliva and dental unit water system. J Microbiol. 2007;45(1):1-5.

[4] Aas JA, paster BJ, Stokes LN, et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol. 2005; 43(11): 5721-5732.

[5] Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, et al. Bacterial diversity in human subgingival Plaque. J Baeteriol. 2001;183(12): 3770-3783.

[6] Boches SK, Mitchell PM, Galvin JL, et al. Cultivable and uncultivable bacteria on the healthy tongue dorsum. J Dent Res. 2000;79:396.

[7] 王见璋. 复发性口腔溃疡口腔微生态的研究[D]. 广东:南方医科大学, 2009:63-64.

[8] 苏玉生. 冰片的药理研究及临床应用[J]. 山东中医杂志, 2003, 22(9):571-572.

[9] 罗筱君. 冰片、芒硝在术后切口脂肪液化中的应用[J]. 井冈山学院学报, 2008, 29(8):10.

[10] 施文甫, 罗安明. 冰片在脑部疾病中的应用[J]. 贵阳中医学院学报, 2010, 32(1):59-60.

[11] 肖玉强, 张良玉, 唐海涛, 等. 冰片促进神剂透过血脑屏障实验研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2007, 6(3):244.

[12] 刘惠芸. 紫草冰片油在皮肤科的应用[J]. 天津中医药, 2003, 20(1):80-81.

[13] Howling GL, Dettmar PW, Goddard PA, et al. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. Biomaterials. 2001; 22(22): 2959-2966.

[14] 陈伟. 复方低分子量壳聚糖口腔膜剂的制备工艺及质量标准研究[D]. 天津:天津大学, 2006:25-31.

[15] 赵志宇, 郭兰, 赵玉梅, 等. 槲皮素壳聚糖膜对口腔溃疡及创面组织中超氧化物歧化酶和丙二醛含量的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(29):5437-5440.

[16] 李辉, 马为. 壳聚糖口腔溃疡膜临床疗效观察[J]. 中西医结合杂志, 2006, 5(3):178-179.

[17] 王芳, 李东. 蒙维口腔溃疡膜的制备及质量控制[J]. 中国药房, 2008, 19(19):1486-1457.

[18] 林世和, 易艳东, 汪瑛丽, 等. 口腔溃疡膜中血竭的鉴别和含量测定[J]. 中国药师, 2009, 12(3):340-341.

[19] 白莉. 黄芩苷口腔缓释膜的制备及性能[D]. 湖北:武汉理工大学, 2007:1-79.

[20] 方贤浩. 活性芦荟口疮缓释药膜对口腔溃疡的临床前实验研究[D]. 吉林:延边大学, 2008:1-105.

[21] 哈娜, 哈力, 杨习江. HPLC法测定口腔溃疡膜中氢化可的松的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(20):1908-1909.

[22] 裴红娜. C-P-CA 复合膜作为口腔溃疡治疗材料的研究[D]. 山东:中国海洋大学, 2007:23-24.