

王不留行黄酮苷软膏剂的制备工艺研究

侯豹¹,冯磊²,王旭²,刘艳玲¹,蔡维维²,邱丽颖^{2*}

¹江南大学药学院天然药物研究室;²江南大学无锡医学院,无锡 214122

摘要:为了研究“王不留行黄酮苷软膏剂”的制备工艺及制剂稳定性,本研究采用多因素配比实验筛选软膏剂处方,采用乳化法制备软膏剂,通过 HPLC 测定制剂含量。优化后的软膏剂处方为:15% 硬脂酸甘油酯(质量分数)、20% 液状石蜡、2% 硬脂酸、6% 十八醇、25% 纯甘油、30% 蒸馏水、2% 十二烷基硫酸钠、0.1% 羟苯乙酯和 0.1% 王不留行黄酮苷。实验结果表明该工艺简单可行,王不留行黄酮苷软膏剂质量稳定可控。

关键词:王不留行黄酮苷;软膏剂;制备工艺;高效液相

中图分类号:R283.6

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.11.003

Preparation of Vaccarin Ointments

HOU Bao¹, FENG Lei², WANG Xu², LIU Yan-ling¹, CAI Wei-wei², QIU Li-ying^{2*}

¹School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University; ²Wuxi Medical School, Jiangnan University, Jiangsu Wuxi 214122, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the preparation process of vaccarin ointment and its stability. Multifactor ratio experiment with the emulsion process was adopted to prepare ointment. The content determination was carried out by HPLC method. The optimal formulation contained 15% (mass fraction) stearic acid glyceride, 20% liquid paraffin wax, 2% stearic acid, 6% octadecanol, 25% pure glycerin, 30% distilled water, 2% sodium dodecyl sulfate, 0.1% hydroxy ethyl benzene and 0.1% vaccarin. The optimized process was simple and feasible. The quality of vaccarin ointment prepared using the optimized process was stable and controllable.

Key words: vaccarin; ointment; preparation; high Performance liquid chromatography

王不留行 (*Vaccaria segetalis*) 为双子叶植物石竹科麦蓝菜的干燥成熟种子^[1], 为常见中药, 具有下乳消肿、活血通经功效^[2]。主要含有三萜皂苷、黄酮苷、环肽、类脂和脂肪酸等成分, 王不留行黄酮苷为一种黄酮糖苷, 为淡黄色颗粒结晶, 易溶于甲醇、水、甲醇-水^[3]。

研究表明王不留行黄酮苷具有促内皮细胞增殖的作用^[4], 可以加快开放性创伤的愈合速度, 可用于治疗糖尿病足、冻伤、皲裂和机械创伤等开放性创伤^[5]。因此, 本研究拟开发王不留行黄酮苷软膏剂, 用于治疗开放性创伤, 方便病人使用。现对王不留行黄酮苷软膏剂的处方、制备工艺及制剂稳定性进行了研究, 以制得性质稳定的王不留行黄酮苷软膏剂, 拓宽王不留行黄酮苷的应用前景, 更充分的开发王不留行黄酮苷的药用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

王不留行黄酮苷标准品(上海士峰生物科技公司)。硬脂酸、十二烷基硫酸钠、单硬脂酸甘油酯、对羟基苯甲酸乙酯、十八醇、甘油、液状石蜡、凡士林均购自国药集团化学试剂有限公司。甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪, 配 2489 UV 检测器及 Empower Pro 色谱数据工作站(美国 Waters 公司), STARTER 3100 pH 计, NDJ-1 旋转粘度计, AL104 型分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), TDZ4A 型台式离心机。

1.3 实验方法

1.3.1 王不留行黄酮苷软膏剂的制备方法

首先将王不留行黄酮苷研细后过 60 目筛备用, 然后取硬脂酸甘油酯、液状石蜡、硬脂酸和十八醇加热融化为油相。另取纯甘油和蒸馏水加热至 90 ℃, 再加入十二烷基硫酸钠和羟苯乙酯融化为水相, 将

水相缓缓倒入油相中,边加边搅拌,直至冷凝即得 O/W 乳剂。随后将过筛以后的王不留行黄酮苷以 0.1% 用量加入至此乳剂中,搅匀即得王不留行黄酮苷软膏剂^[6]。

1.3.2 王不留行黄酮苷软膏剂外观性状检测标准

软膏剂应均匀、细腻、具有适当的粘稠性,宜涂布于皮肤或黏膜上并且无刺激。

均匀性是指取软膏约 1 g,置于表面光洁的玻璃板中间,小心再盖上同样大小的玻璃板(不要带入气泡),用夹子夹紧四周,对着日光观察,应无颗粒状,色泽均匀、细腻。

1.3.3 王不留行黄酮苷软膏剂的稳定性检查

将软膏装入带塞试管中,分别于 55 ℃ 恒温放置 6 h 与零下 15 ℃ 恒温放置 24 h,观察应无液化、粗化、分层等现象。将软膏置于 10 mL 离心管中,离心 30 min(3000 rpm)应无分层现象。

1.3.4 王不留行黄酮苷软膏剂 pH 测定

将 1 g 软膏稀释至 10 g 去离子水中,然后用 STARTER 3100 pH 计测定其 pH 值。

根据中国药典二部附录 VIH 规定的乳剂型基质 PH 要求,W/O 型乳剂基质 pH 应不大于 8.5、O/W 型乳剂基质 pH 应不大于 8.3,但作为开放性创伤的软膏剂其基质 pH 值应该在人体组织液 pH 值(7.0~7.4)范围内,所以下面实验进行软膏剂配方筛选 pH 值应在(7.0~7.4)范围内。

1.3.5 王不留行黄酮苷软膏剂粘度测定

本研究使用 NDJ-1 旋转粘度计,检测软膏剂的粘度。由于王不留行黄酮苷软膏剂是用于体表的涂抹,所以其适宜粘度应在 $10^2 \sim 10^5 \text{mpas}$ 范围内。

1.3.6 王不留行黄酮苷软膏剂中黄酮苷的含量测定

1.3.6.1 对照品溶液制备

取王不留行黄酮苷对照品 20 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,用 70% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,作为标准品贮备液;再分别量取标准贮备

液适量,配制成浓度依次为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1 mg/mL 的溶液备用。

1.3.6.2 供试品溶液制备

精密称取王不留行黄酮苷软膏 2.0 g 至 100 mL 量瓶中,加入甲醇适量,60 ℃ 超声 20 min 使其溶解,放冷后加入甲醇稀释至刻度过滤,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

1.3.6.3 色谱条件

色谱柱为 Agilent C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.3% 磷酸溶液;流速为 0.5 mL/min;检测波长为 280 nm;柱温为 30 ℃;进样量为 10 μL。

1.3.6.4 含量测定

分别在软膏制备后 1 天和 2 个月时间点精密称取 3 批次王不留行黄酮苷软膏,依法制备供试品溶液按照上述色谱条件进样、测定。

2 结果与分析

2.1 王不留行黄酮苷软膏剂处方筛选

2.1.1 王不留行黄酮苷软膏剂三元油相组成的筛选

在筛选三元油相种类时,选择水相:15% 纯甘油和 40% 蒸馏水,乳化剂:2% 十二烷基硫酸钠和 15% 硬脂酸甘油酯,防腐剂:0.1% 羟苯乙酯。然后从液体石蜡、硬脂酸、蜂蜡、十八醇四种油相中筛选出一组较佳的油相配方,按 2.1 软膏剂的制备方法制备。然后按上述软膏剂的检测方法检测软膏剂的各项指标。

由表 1 所给出的各项指标结果,可知液体石蜡:蜂蜡:十八醇为(5:1:1)时软膏剂的 pH 值稍微偏大,不符合要求。液体石蜡:硬脂酸:蜂蜡为(5:1:1)和液体石蜡:硬脂酸:十八醇为(5:1:1)时各项指标皆符合要求。但考虑到十八醇在软膏剂的制备过程中处理较方便,比蜂蜡廉价、易得等优点,故选取液体石蜡、硬脂酸和十八醇作为三元油相辅料。

表 1 三元油相种类的筛选实验
Table 1 Screening of different ternary oil phases

处方 Prescription	外观 Appearance	稳定性 Stability	pH	黏度(25 ℃) Viscosity
液体石蜡:硬脂酸:蜂蜡(5:1:1)	均匀、细腻	55 ℃、-15 ℃、3000 rpm 不分层	7.18	$8.0 \times 10^4 \text{mpas}$
液体石蜡:硬脂酸:十八醇(5:1:1)	均匀、细腻	55 ℃、-15 ℃、3000 rpm 不分层	7.01	$7.5 \times 10^4 \text{mpas}$
液体石蜡:蜂蜡:十八醇(5:1:1)	均匀、细腻	55 ℃、-15 ℃、3000 rpm 不分层	7.70	$9.0 \times 10^4 \text{mpas}$

2.1.2 王不留行黄酮苷软膏剂三元油相配比的筛选

在筛选三元油相配比时,选择水相:15%纯甘油和40%蒸馏水,乳化剂:2%十二烷基硫酸钠和15%

硬脂酸甘油酯,防腐剂:0.1%羟苯乙酯。然后改变三元油相液体石蜡、硬脂酸和十八醇的配比,按2.1软膏剂的制备方法制备。然后按上述软膏剂的检测方法检测软膏剂的各项指标。

表2 三元油相配比的筛选实验

Table 2 Comparison of different ternary oil phase ratios

液体石蜡:硬脂酸:十八醇 Liquid paraffin:Stearic acid:Octadecanol	外观 Appearance	稳定性 Stability	pH	黏度(25℃) Viscosity
5:1:3	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.24	6.8×10^4 mps
5:1:2	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.16	7.8×10^4 mps
5:1:1	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.01	7.5×10^4 mps
5:2:1	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	6.81	6.7×10^4 mps
5:3:1	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	6.78	7.6×10^4 mps

由表2所给出的各项指标结果,可知液体石蜡:硬脂酸:十八醇为(5:2:1)和(5:3:1)时软膏剂的pH值稍微偏低,不符合要求。液体石蜡:硬脂酸:十八醇为(5:1:3)、(5:1:2)和(5:1:1)时各项指标皆符合要求且无明显差别。但十八醇价廉易得,且当液体石蜡:硬脂酸:十八醇为(5:1:3)时软膏剂黏度较小适宜开放性创伤的涂抹。故选取石蜡:硬脂酸:十八醇为(5:1:3)作为三元油相的配比。

2.1.3 王不留行黄酮苷软膏剂二元水相配比的筛选

在筛选二元水相配比时,选择油相:20%液体石蜡,2%硬脂酸和6%十八醇,乳化剂:2%十二烷基硫酸钠和15%硬脂酸甘油酯,防腐剂:0.1%羟苯乙酯。然后改变二元水相纯甘油与蒸馏水的配比,按2.1软膏剂的制备方法制备。然后按上述软膏剂的检测方法检测软膏剂的各项指标。

表3 二元水相配比的筛选实验

Table 3 Comparison of different dual water phase ratios

纯甘油:蒸馏水 Glycerinum:Distilled water	外观 Appearance	稳定性 Stability	pH	黏度(25℃) Viscosity
3:8	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.24	6.8×10^4 mps
4:7	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.12	7.0×10^4 mps
5:6	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.14	7.2×10^4 mp
6:5	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	6.75	7.6×10^4 mps
7:4	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	6.74	8.4×10^4 mps
8:3	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	6.81	9.3×10^4 mps

由表3所给出各项指标结果,可知纯甘油:蒸馏水为(6:5)、(7:4)和(8:3)时软膏剂的pH值稍微偏低,不符合要求。纯甘油:蒸馏水为(3:8)、(4:7)和(5:6)时各项指标皆符合要求且无明显差别。但是考虑到本品为王不留行黄酮苷软膏剂,其中的王不留行黄酮苷可溶于水,并且水量越多越容易分解而降低药效。故蒸馏水的用量越少越好,所以选取纯甘油:蒸馏水为(5:6)作为二元水相配比。

2.1.4 王不留行黄酮苷软膏剂油相与水相配比筛选

在筛选油相与水相的配比时,选择油相:液体石

蜡、硬脂酸和十八醇的配比为(5:1:3),水相:纯甘油和蒸馏水的配比为(5:6),乳化剂:2%十二烷基硫酸钠和15%硬脂酸甘油酯,防腐剂:0.1%羟苯乙酯。然后改变油相与水相的配比,按2.1软膏剂的制备方法制备。然后按上述软膏剂的检测方法检测软膏剂的各项指标。

由表4所给出各项指标结果,可知油相:水相为(1:1)、(2:1)和(3:1)时软膏剂的外观不均匀、稳定性较差,不符合要求。油相:水相为(1:3)和(1:2)软膏剂的各项指标皆符合要求且无明显差别。但是考虑到本品为王不留行黄酮苷软膏剂,其中的王不

表4 油相与水相配比筛选实验

Table 4 The screening experiment of oil and water phase ratio

油相:水相 Oil phase: Water phase	外观 Appearance	稳定性 Stability	pH	黏度(25℃) Viscosity
1:3	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.21	6.8×10^4 mps
1:2	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.16	7.2×10^4 mps
1:1	不均匀、粗糙	55℃液化分层、-15℃、3000 rpm 不分层	7.18	大于 1.0×10^5 mps 成固体状
2:1	不均匀、粗糙颗粒状	55℃液化分层、-15℃、3000 rpm 不分层	7.13	大于 1.0×10^5 mps 成固体状
3:1	不均匀、粗糙颗粒状	55℃液化分层、-15℃、3000 rpm 不分层	7.15	大于 1.0×10^5 mps 成固体状

留行黄酮苷可溶于水,并且水量越多越容易分解而降低药效。故水相的用量越少越好,所以选取油相:水相为(1:2)作为油相与水相的配比。

2.1.5 在软膏剂基质中加入王不留行黄酮苷后平行三组实验其指标列表

在检测在软膏剂基质中加入王不留行黄酮苷后其各项指标时,平行制备三批次软膏,按实施例1中软膏剂的制备方法。将王不留行黄酮苷研细后过60目筛备用,取15%硬脂酸甘油酯(15%为硬脂酸

甘油酯在软膏剂中的质量分数,且以下试剂的用量皆为质量分数)、20%液状石蜡、2%硬脂酸和6%十八醇加热融化为油相。另取25%纯甘油和30%蒸馏水加热至90℃,再加入2%十二烷基硫酸钠和0.1%羟苯乙酯溶解为水相。然后将水相缓缓倒入油相中,边加边搅拌,直至冷凝即得O/W乳剂。随后将过筛以后的王不留行黄酮苷以0.1%用量加入至此乳剂中,搅匀即得王不留行黄酮苷软膏剂。然后按上述软膏剂的检测方法检测软膏剂的各项指标。

表5 在软膏剂基质中加入王不留行黄酮苷后平行三组实验

Table 5 Three parallel experiments of adding *V. segetalis* flavonoid glycosides into ointments matrix

组别 Group	外观 Appearance	稳定性 Stability	pH	黏度(25℃) Viscosity
1	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.27	7.5×10^4 mps
2	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.31	7.3×10^4 mps
3	均匀、细腻	55℃、-15℃、3000 rpm 不分层	7.24	7.3×10^4 mps

由表5所给出各组软膏剂各项指标结果,可知各组软膏剂的各项指标皆符合实施例1中软膏剂的检测标准,且批次间差异较小。故本发明研究出的这种王不留行黄酮苷软膏剂的制备方法,制备出的软膏剂工艺稳定重复性好符合软膏剂制备标准。

2.2 王不留行黄酮苷软膏剂中黄酮苷含量的测定

2.2.1 线性关系考察

按照1.3.6.3项下色谱条件进行测定,记录色谱图,以峰面积Y为纵坐标,以相应浓度X为横坐

标进行线性回归,得到如下回归方程: $Y = 2.2E + 7X + 5452.4$, $r^2 = 0.9997$ 。结果表明:王不留行黄酮苷在0.005~0.100 mg/mL浓度范围内与峰面积线性关系良好。

2.2.2 黄酮苷含量测定

分别在软膏制备后1天和2个月时间点精密称取3批次王不留行黄酮苷软膏,依法制备供试品溶液按照上述色谱条件进样、测定结果见表6。

表6 王不留行黄酮苷含量测定结果

Table 6 Content determination results of *V. segetalis* flavonoid glycosides in ointments

批次 Group	1天黄酮苷含量 Vaccarin content (one day) (mg/g)	RSD (%)	2个月黄酮苷含量 Vaccarin content (two months) (mg/g)	RSD (%)
1	1.00	0.34	1.00	0.76
2	1.001	0.42	0.99	0.27
3	0.98	0.72	0.98	0.63

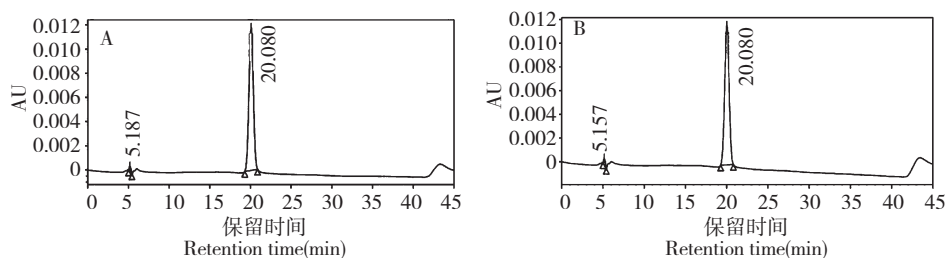


图1 王不留行黄酮苷标准品(A)及供试品(B)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of vaccarin standard (A) and ointment sample (B)

3 讨论与结论

王不留行黄酮苷易溶于水,但是水量过多时又容易分解,因此水相的用量在制备工艺筛选过程中属于研究重点。软膏剂的外观和黏度在研究过程中差异不明显,均应符合中国药典要求。本研究采用多因素配比实验筛选软膏剂处方,并采用十二烷基硫酸钠和硬脂酸甘油酯分别作为水相和油相乳化剂协同作用,成功制备王不留行黄酮苷软膏,外观细腻光滑,稳定性良好。该工艺简单、可行,产品质量稳定可控,拓宽了王不留行黄酮苷的应用前景,同时也拓宽了开放性创伤的治愈渠道。

在王不留行黄酮苷含量测定过程中,因为有油沫的存在,供试品溶液的定容可能存在误差,导致王不留行黄酮苷的含量偏高,但测定结果相对准确。本研究参考了中国药典中王不留行黄酮苷的HPLC测定方法。经方法学考察,表明该方法操作简便、结果准确可靠。

参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia(国家药典委员会). Pharmacopoeia

of People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 49-51.

- Meng H (孟贺), Chen YP (陈玉平), Qin WJ (秦文杰), *et al.* Cowherb seed medium yellow ketone glucoside of separation and identification. *China Tradit Herb Drug* (中草药), 2011, 42: 874-876.
- Lu YH (卢艳花), Zhu EY (朱恩圆), Chen ZG (陈昭桂), *et al.* Extraction and Separation of Chinese Medicine Effective Component Instance. Beijing. Chemical Industry Press, 2007, Vol I, 49-51.
- Xie FS, Cai WW, Liu YL, *et al.* Vaccarin attenuates human EA · hy926 endothelial cells oxidative stress injury through Notch signaling inhibition. *Int J Molec Med*, 2015, 35: 135-142.
- Han J (韩晋), Li N (李娜), Liu D (刘冬), *et al.* Compound *Ganoderma lucidum* cream of rabbit ears Frostbite slightly the preliminary research on the therapeutic effect. *Pharm J China* (中国药学杂志), 2012, 9: 689-692.
- Cui FD (崔福德), Lv WL (吕万良), Lu B (陆斌), *et al.* Pharmacy. Beijing: People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 2007, Vol VI, 40-41.