

镰形棘豆总黄酮霜剂的处方筛选及稳定性考察

兰芝荟^{1,2}, 刘延彤², 何毅刚², 李茂星², 杜青云³, 贾正平^{1,2} (1. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000 2. 兰州军区兰州总医院, 甘肃 兰州 730050 3. 解放军第 175 医院药材科, 福建 漳州 350005)

[摘要] 目的 筛选镰形棘豆总黄酮霜剂的处方, 并考察各产品的稳定性。方法 选取组成不同的水包油(O/W)乳膏基质, 采用研和法制备霜剂。采用外观、显微观察、含量变化等方面评价各处方的优劣及产品的稳定性。结果 以硬脂酸 3 g 白凡士林 3 g 单硬脂酸甘油酯 1 g 司盘-60 0.8 g 液体石蜡 4.5 g 为油相, 吐温-80 2.5 g 甘油 5 g 尼泊金 Q 0.1 g 蒸馏水 40 ml 为水相制得的霜剂具有良好的稳定性, 易涂抹、易清洗, 质量稳定。结论 镰形棘豆总黄酮霜剂的处方得到了优选, 产品质量稳定。

[关键词] 总黄酮; 镰形棘豆; 霜剂; 处方; 稳定性

[中图分类号] R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)06-0422-04

Study on the formulation and stability of the total flavones cream of *Oxytropis falcata*

LAN Zhihu^{1,2}, LIU Yantong², HE Yigang², LIMaoxing², DU Qingyun³, JIA Zhengping^{1,2} (1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China 2. Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China 3. Department of Pharmacy, The 175th Hospital of PLA, Zhangzhou 350005, China)

[Abstract] **Objective** To study the formulation and stability of the total flavonoids cream from *Oxytropis falcata*. **Methods** The oil in water (O/W) cream matrices with different compositions were studied. The quality and stability of the cream were evaluated by appearance inspection, microscopic observation and content alteration. **Results** The optimal cream bases contains stearic acid 3 g, white vaseline 3 g, satiric glycol ester 1 g, span-60 0.8 g, liquid paraffine 4.5 g as the oil phase, tween-80 2.5 g, glycerol 5 g, methyl p-hydroxybenzoate 0.1 g and distilled water 40 ml as the aqueous phase. The cream possessed the best character of lubrication, exquision, stability and was easy to be used and cleaned. **Conclusion** The formulation of the total flavonoids cream of *Oxytropis falcata* was optimized with stable quality.

[Keywords] the total flavones, *oxytropis falcata* Bunge cream; formulation; stability

镰形棘豆 (*Oxytropis falcata* Bunge) 系豆科棘豆属的多年生无茎草本植物, 是我国青藏高原常用的民间草药之一^[2]。以鼠李柠檬素为代表的黄酮类成分是其主要化学成分^[3] (图 1)。大量文献报道天然植物黄酮类成分因其多酚结构具有很好的清除自由基, 抗脂质过氧化作用^[4]。许多黄酮类化合物由于具有很好的水溶性、刺激性小等特点而制成霜剂被广泛使用, 如黄芩美白防晒日霜、芦丁霜和葡萄籽霜的制备^[5-7]。课题组前期运用大孔吸附树脂法富集提取了镰形棘豆总黄酮^[8], 初步研制了防晒乳膏^[9], 本考察在此基础上, 进一步优选其处方组成, 从外观、显微观察、含量变化等多方面评价各处方的

优劣及产品的稳定性。为产品的进一步开发提供基础。

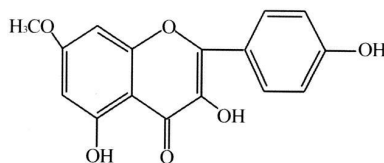


图 1 鼠李柠檬素结构式

1 材料

HP8453型紫外可见分光光度计 (美国惠普); 酸度计 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 二氯氧钼 (ZOC, 美国集团化学有限公司, F20060810); 镰形棘豆总黄酮 (自制); 芦丁对照品 (中国药品生物检验所); 硬脂酸甘油酯、硬脂酸、白凡士林、液体石蜡、十二烷基硫酸钠、甘油、三乙醇胺、无水羊毛脂、司盘-60、聚山梨醇酯-80 均由上海化学试剂采购站

[基金项目] 全军医药卫生“十一五”课题面上项目 (06MB100); 南京军区医药卫生科研课题 (06MA-95)。

[作者简介] 兰芝荟 (1982-), 女, 硕士研究生。Tel (0931) 8994676 E-mail lin30530xinq@yahoo.com.cn。

[通讯作者] 贾正平。Tel (0931) 8994676 E-mail linaox2005@yahoo.com.cn。

提供; 甲醇, 乙醇购自天津化学试剂有限公司。健康 Wistar 雌性大鼠 (由兰州大学医学部动物实验中心提供, 合格证号: SCXK(甘) 2009-0004)。

2 方法与结果

2.1 处方设计 根据各基质的理化性质和西北地区的气候特点, 拟定 8 个霜剂处方见表 1, 分别称取镰形棘豆总黄酮粉末 0.6 g 均采用研和乳化^[10]法

制备。

2.2 制备方法 取处方中的油相置于烧杯中水浴加热至 80 ℃左右, 使之全部溶化, 保温。另取各处方中的水相和镰形棘豆总黄酮粉末一起置于另一烧杯中, 加热溶解, 80 ℃左右水浴保温。将尼泊金溶于少量的无水乙醇, 加至水相中。在不断搅拌下将相同温度的油相缓慢加入到水相中研磨至乳化完全, 冷却即得。

表 1 镰形棘豆总黄酮的霜剂处方基质组成

编号	油相						水相					
	硬脂酸 (g)	单硬脂酸甘油酯 (g)	白凡士林 (g)	液体石蜡 (g)	司盘-60 (g)	羊毛脂 (g)	甘油 (g)	十二烷基磷酸钠 (g)	三乙醇胺 (g)	吐温-80 (g)	尼泊金 (g)	蒸馏水 (ml)
1	5	—	2.5	7.5	—	—	7	1	—	—	—	19.4
2	5	—	5	7.5	—	—	7	1	—	—	—	20
3	10	—	5	7.5	1	—	8	1	2	—	—	25
4	5	—	5	7.5	1	—	5	1	2	—	—	15
5	5	—	5	7.5	1	—	5	1	2	—	0.05	15
6	7	—	1	7.5	—	1	4	0.1	1	—	0.1	30
7	6	—	3	4.5	0.8	—	5	—	—	2.2	0.1	25
8	3	1	3	4.5	0.8	—	5	—	—	2.5	0.1	40

2.3 稳定性考察

2.3.1 离心法 分别取 8 种基质配成的霜剂 10 g

装入刻度离心管内, 以 4 000 r/min 离心 15 min, 观察离心后现象。见表 2。

表 2 8 种霜剂处方稳定性考察结果

编号	外观	离心后的现象	显微镜观察结果	pH 值
1	淡黄色、不细腻、有光泽、黏稠度不高, 易涂抹、易清洗	表层有微量大颗粒, 中层有少许气泡, 有大量油水分离现象	形状不规则, 排列不均匀	4.90
2	淡黄色、较细腻、有光泽、黏稠度不高, 易涂抹、易清洗	表层大颗粒不明显, 中层有少许气泡, 有少量油水分离现象	形状不规则, 排列不均匀	4.52
3	淡黄色、细腻、有光泽、黏稠度一般, 易涂抹、易清洗	表层大颗粒较明显, 并伴有少量气泡, 同时油水分离很明显	形状较规则, 排列较均匀	7.06
4	淡黄色、细腻、有光泽、黏稠度一般, 易涂抹、易清洗	表层大颗粒不明显, 并伴有少量气泡和少量油水分离现象	形状规则, 排列较均匀	7.14
5	淡黄色、细腻、有光泽、偏稠, 易涂抹、易清洗	表层大颗粒不明显, 中层有少许气泡, 无油水分离现象	形状较规则, 排列不均匀	7.01
6	淡黄色、细腻、有光泽、黏稠度好, 易涂抹、易清洗	表层大颗粒不明显, 无油水分离现象	形状较规则, 排列较均匀	6.90
7	淡黄色、细腻、有光泽、偏稠, 易涂抹、易清洗	表层大颗粒不明显, 无油水分离现象	形状规则, 排列均匀	4.48
8	淡黄色、细腻、有光泽、黏稠度合适, 易涂抹、易清洗	表面颗粒细腻有光泽, 无油水分离现象	形状规则, 排列均匀	4.55

2.3.2 pH 值测定 参考化妆品检验方法中 pH 值测定方法 (GB/T13531.1-2000)。取样品 1.0 g 加蒸馏水 10 ml 稀释, 置于 40 ℃水浴锅上加热, 不断搅拌至霜充分溶解, 冷却至室温, 待用。采用直测法, 用校正后的 pH 计进行测定 (表 2)。

2.3.3 显微镜观察 本实验中的 8 种处方均采用水包油型软膏基质, 而每种基质所制备的霜剂细腻度各不相同, 利用生物显微镜 (10 × 100) 来观察霜

剂的细腻度。见表 2 图 2。

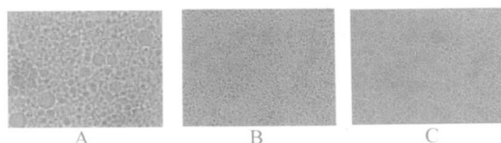


图 2 3 种霜剂处方显微镜 (10 × 100) 观察图
A-3 号处方; B-6 号处方; C-8 号处方

2.3.4 留样观察 分别取 3 批 8 种基质, 每种 25 g 装入包装盒内, 加盖后分别置于恒温 (38 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 48 h 室温 $20 \sim 30$ $^{\circ}\text{C}$, 3 个月; 冰箱 $0 \sim 5$ $^{\circ}\text{C}$, 1 个月, 分别观察霜剂变化。见表 3。

表 3 不同条件下霜剂处方稳定性考察结果

编号	恒温 (38 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 48 h	室温 $20 \sim 30$ $^{\circ}\text{C}$, 3 个月	冷藏 $0 \sim 5$ $^{\circ}\text{C}$, 1 个月
1	有大量油水分离现象, 并伴有发霉	有大量油水分离现象, 并伴有发霉	有大量油水分离现象
2	有少量油水分离现象, 并伴有发霉	有少量油水分离现象, 并伴有发霉	有少量油水分离现象
3	有少量油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有少量霉变	有少量油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有大量霉变	有少量油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀
4	有少量油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有大量霉变	有少量油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有大量霉变	有少量油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀
5	无油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有少量霉变	无油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有少量霉变	无油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀
6	无油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有少量霉变	无油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀, 并伴有少量霉变	无油水分离现象, 颜色加深, 霜剂变得膨胀
7	无油水分离现象, 有少量霉变	无油水分离现象, 有少量霉变	无油水分离现象
8	无油水分离现象, 无霉变	无油水分离现象, 无霉变	无油水分离现象, 无霉变

2.3.5 含量测定 根据课题组的前期文献^[11], 以芦丁为对照品, 2.5 M 盐酸甲醇溶液 90 $^{\circ}\text{C}$ 水解 30 min, 3.0% 二氯氧锆 (ZrOCl_2) 显色剂, 于 453 nm 波长处比色法测定各处方霜剂制备后 0 个月、恒温放置 48 h 及室温放置 6 个月即时测定各个处方的总黄酮含量。见表 4。

表 4 8 种霜剂处方中镰形棘豆总黄酮的含量测定结果 $\text{mg/g}(\%)$

处方	室温 0 个月	恒温 (38 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 48 h	室温 6 个月
1	7.697	7.652(99.415)	7.535(97.895)
2	8.099	7.891(97.432)	7.688(94.925)
3	8.497	8.332(98.058)	8.166(96.105)
4	9.100	8.891(97.703)	8.607(94.582)
5	8.892	8.568(96.356)	8.434(94.849)
6	9.202	8.728(94.849)	8.345(90.687)
7	9.297	8.905(95.784)	9.137(98.279)
8	10.635	9.956(93.615)	9.948(93.540)

上述结果表明, 霜剂基质中加入羊毛脂和白凡士林均可增加霜剂的细腻度, 白凡士林性质稳定, 可与大多数药物配伍, 具有很好的涂展性和无刺激性, 但吸水性差; 羊毛脂一般同白凡士林合用, 以改善白凡士林的吸水性, 但过于黏稠, 使用起来不方便; 单硬脂酸甘油酯也可以增加白凡士林的吸水性, 使用方便, 因此处方中将羊毛脂用单硬脂酸甘油酯代替。从离心后的霜剂外观、显微观察和稳定性考察均表明霜剂处方的优劣顺序为 $8 > 7 > 6 > 5 > 4 > 3 > 2 > 1$ 。由 8 号处方制成的水包油型镰形棘豆总黄酮霜剂细腻度高、润滑度好、有光泽、易清洗、易涂抹, 放置稳定。

2.4 刺激性实验 选 180~200 g 的健康 Wistar 雌性大鼠 10 只, 每只大鼠背部剃毛 2 cm^2 , 将优选制备

的霜剂涂抹于大鼠背部, 观察 72 h 结果 10 只大鼠均无皮肤发红、起疹、水疱等不良反应, 图 3 图 4。

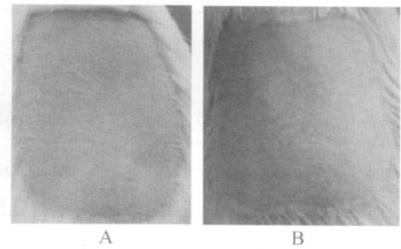


图 3 霜剂处方 8 过敏外观表现
A-正常大鼠; B-涂霜大鼠

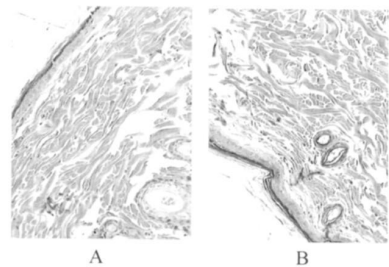


图 4 霜剂处方 8 过敏病理切片
A-正常大鼠; B-涂霜大鼠

3 讨论

实验结果发现: 白凡士林作为油脂性基质时可使霜剂颜色更有光泽; 甘油作为保湿剂, 同时兼有防腐性, 可以弥补 O/W 型霜剂易干燥、易霉变的缺点; 液体石蜡常用于调节软膏的稠度; 单硬脂酸甘油酯能增加油相的吸水能力, 在 O/W 型基质中作为稳定剂并有增稠作用, 还可使制得的霜剂细腻光滑。

在处方中三乙醇胺作为辅助乳化剂被使用,可与部分的硬脂酸作用生成新生皂,而起 O/W 型乳化剂的作用,但从处方 3、4、5、6和其他处方比较可以看出,当霜剂中含有三乙醇胺时,所制备的镰形棘豆总黄酮放置一段时间后,霜剂的颜色加深,且变得蓬松;同时,测得 pH 大于 6.8 接近中性。这可能是三乙醇胺和水相混合,使整个水相处在碱性环境下,当加入本身显酸性的镰形棘豆总黄酮时,两者发生反应,一方面可能与苯环上的羟基生成盐;另一方面可能破坏黄酮中的 C 环,使 C 环打开,从而使霜剂整体颜色加深。因此在制备该霜剂时三乙醇胺不能使用。处方 1、2、7、8 的 pH 值小于 5.83 符合水包油基质的酸碱度^[10]。十二烷基硫酸钠作为乳化剂,能使霜剂细腻,但唯一不足之处就是,如果制霜过程中搅拌速度过快,就会导致霜剂中产生大量气泡。因此,在最佳霜剂处方未选用十二烷基硫酸钠,而选用易控制搅拌速度的吐温-80 它为水溶性表面活性剂,常被广泛用作增溶剂或 O/W 型乳化剂。司盘-60 在处方中作为 O/W 型辅助乳化剂,以调节适宜的亲水亲油平衡值而形成稳定的 O/W 型乳剂型基质。

当处方中有吐温时,防腐剂尼泊金便会部分失活。解决的办法就是加大尼泊金的用量。另外,采用少量乙醇溶解可以加大尼泊金的溶解度,可以增加霜剂整体的防腐效果。

(上接第 421 页)

3 讨论

制备微乳的关键是找出油相、表面活性剂、助表面活性剂及水相的合适配比,本实验通过水滴定法绘制微乳伪三元相图,改变微乳中成分的比例,观察 K_m 值的变化对微乳区域大小的影响,选择形成微乳区域比较大的点设计处方。本实验的油相选用 Laurylglycol FCC,除了其吡罗昔康的溶解度相对较高,更重要的是考虑到它的渗透能力比较好,适合做透皮制剂的载体^[5]。另外,考虑透皮制剂的安全性,选用非离子表面活性剂作为乳化剂。由于 Labrasol 乳化能力较弱,因此加用 Cremopher EL 为混合乳化剂,使药物溶解度增加,微乳粒径减小。而且 Cremopher EL 对皮肤刺激性低,乳化能力强,应用较广泛安全性好。

仅根据伪三元相图的方法优化透皮微乳处方,具有一定程度上的局限性,故需其他实验辅助判断^[6]。因此本实验结合离体大鼠皮肤的渗透实验,综合评价累积渗透量和渗透速率进一步筛选了较优处方,结果表明,吡罗昔康微乳的透皮效果很好,12

【参考文献】

- [1] 罗达尚. 中华藏本草 [M]. 北京: 民族出版社, 1997.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1986.
- [3] 李茂星, 兰芝荟, 樊鹏程, 等. 藏药镰形棘豆的研究进展 [J]. 中药材, 2009, 32(8): 1318.
- [4] 乌兰格日乐, 白海泉, 翁 慧. 黄酮的抗氧化活性的研究进展 [J]. 内蒙古民族大学学报 (自然科学版), 2008, 23(3): 277.
- [5] 孙凤娇, 廖克俭, 丛玉凤, 等. 含中草药黄酮有效成分的美白防晒日霜的研制 [J]. 东华理工大学学报 (自然科学版), 2008, 31(4): 377.
- [6] 龚盛昭, 何远伦. 芦丁在抗衰老化妆品中的应用研究 [J]. 香料香精化妆品, 2003, 2: 19.
- [7] 胡佳兴, 楼一层, 王 晨, 等. 葡萄籽霜剂的制备 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(14): 1165.
- [8] 刘延彤, 李茂星, 杜青云, 等. 大孔吸附树脂富集藏药镰形棘豆总黄酮的工艺研究 [J]. 药学实践杂志, 2008, 26(6): 438.
- [9] 杜青云, 洪佳妮, 郭文勇, 等. 镰形棘豆防晒乳的制备与质量评价 [J]. 医药导报 2010, 29(2): 229.
- [10] 张兆旺. 中药药剂学 [M] 北京: 中国中医药出版社, 2003: 305.
- [11] 李茂星, 贾正平, 张汝学, 等. 二氯氧锆比色法测定镰形棘豆水提取物中的总黄酮 [J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(4): 466.

[收稿日期] 2010-01-28

[修回日期] 2010-06-16

h 累积渗透量可达 $98.91 \pm 22.05 (\mu\text{g}/\text{cm}^2)$ 。本实验也说明单纯使用表面活性剂和助表面活性剂并不是微乳透皮的主要促进因素,间接证明了微乳的良好透皮作用可能是通过纳米乳滴整体产生的纳米效应达到的。

【参考文献】

- [1] 陈新谦. 新编药理学 [M]. 16版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 201.
- [2] 张 红, 刘 宾, 何伟雄, 等. 吡罗昔康涂膜剂的制备与质量控制 [J]. 中国药业, 2009, 18(9): 40.
- [3] 杨艳丽, 徐 晖, 盛秋双, 等. 吡罗昔康普朗尼克磷脂有机凝剂的体外评价和局部组织分布 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(4): 265.
- [4] T. P' enzes T, Blaz' o G, A igner Z, *et al*. Topical absorption of piroxicam from organogels: in vitro and in vivo correlations [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2005, 298: 47.
- [5] K kwai L, Kanakkaman N, Babu R J, *et al*. Effect of vehicles on the transdermal delivery of melatonin across porcine skin in vitro [J]. Journal of Controlled Release, 2002, 83: 307.
- [6] 潘国梁, 贾小斌, 魏惠华, 等. 药用微乳伪三元相图的几种制备方法比较研究 [J]. 中国药房, 2006, 11(1): 21.

[收稿日期] 2010-03-30

[修回日期] 2010-05-07