

重楼总皂苷巴布剂的基质处方优化及含量测定

罗云, 熊志伟, 梁新丽, 赵国巍, 张婧, 赵海平, 杨明, 廖正根*

(江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 优选重楼总皂苷巴布剂的基质处方并建立其含量测定方法。**方法:** 以涂展性、透布性、均匀性、赋形性、皮肤追随性、黏附性、反复揭帖性为综合评价指标, 在预试验基础上, 选择明胶、聚丙烯酸钠、甘油及聚乙烯吡咯烷酮-K30 用量为考察因素, 采用均匀设计法优选重楼总皂苷巴布剂的基质处方; 利用 HPLC 测定重楼皂苷 II, VII 含量, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~40 min, 30%~60% A; 40~50 min, 60%~30% A; 50~55 min, 30% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm。**结果:** 最佳基质处方为明胶-聚丙烯酸钠-聚乙烯吡咯烷酮-K30-甘油-甘羟铝-氮酮-重楼总皂苷(2.0:4.0:1.25:15:0.16:1.2:4); 重楼皂苷 II, VII 线性范围分别为 0.055~5.5, 0.086 8~8.68 μg, 质量分数分别为 1.06, 3.79 mg·g⁻¹。**结论:** 制备的巴布剂载药量大, 具有良好的黏附性和外观。建立的含量测定方法简便、准确可靠、重复性好, 适用于该制剂的质量评价。

[关键词] 重楼总皂苷; 巴布剂; 均匀设计法; 基质处方; 质量评价

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2; R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0005-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220005

Optimization of Matrix Formulation and Content Determination of Paridis Rhizoma Total Saponins Cataplasms

LUO Yun, XIONG Zhi-wei, LIANG Xin-li, ZHAO Guo-wei, ZHANG Jing,
ZHAO Hai-ping, YANG Ming, LIAO Zheng-gen*

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education,
Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize matrix formulation of Paridis Rhizoma total saponins cataplasms and establish its determination. **Method:** With ductility, fabric penetration, uniformity, shaped type, skin following nature, adhesion and repeated exposing paste as comprehensive evaluation indicators, on the basis of preliminary experiments, taking dosages of gelatin, sodium polyacrylate, glycerine and polyvinylpyrrolidone-K30 (PVP-K30) as factors, matrix formulation of this preparation was optimized by uniform design. HPLC was adopted to determine contents of polyphyllin II and polyphyllin VII with mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) for gradient elution (0-40 min, 30% -60% A; 40-50 min, 60% -30% A; 50-55 min, 30% A), flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and detection wavelength at 203 nm. **Result:** Optimum matrix formulation was gelatin-sodium polyacrylate-PVP-K30-glycerine-glycinate aluminum-azone-total saponins from Paridis Rhizoma (2.0:4.0:1.25:15:0.16:1.2:4); polyphyllin II and polyphyllin VII had good liner relationship in the ranges of 0.055-5.5 μg and 0.086 8-8.68 μg, respectively; contents of them in this cataplasms were 1.06, 3.79 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** Prepared cataplasms have great drug loading capacity, good adhesion and appearance. Established HPLC method is convenient, accurate and reliable with good reproducibility, which can be suitable for quality evaluation of this preparation.

[收稿日期] 20140610(007)

[基金项目] 江西省科技计划项目(20123BBG70200); 赣鄱英才 555 工程领军人才培养计划(赣财教指[2013]296 号)

[第一作者] 罗云, 博士, 讲师, 从事中药新制剂、新剂型、新工艺研究, Tel:0791-87119027, E-mail:luoyunn@163.com

[通讯作者] * 廖正根, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药制剂及新剂型研究, Tel:0791-87118658, E-mail:lyzlyg@163.com

[Key words] total saponins from *Paridis Rhizoma*; cataplasms; uniform design; matrix formulation; quality evaluation

重楼为百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* 或七叶一枝花 *P. polyphylla* var. *chinensis* 的干燥根茎,又名蚤休、草河车、独脚莲等。重楼外用可治疗疮痈肿毒、毒蛇咬伤、跌打损伤,疗效确切,但传统的“醋磨外敷”给药方式存在使用不方便、给药剂量不准确、载药量有限、皮肤黏附力差、透皮吸收率低、稳定性差等问题,限制了其临床疗效的发挥。

巴布剂又称凝胶膏剂,是一种将中药提取物、饮片或/和化学药物与适宜的亲水性基质混匀后,涂布于背衬材料上制成的贴膏剂^[1],具有使用方便、载药量大、皮肤亲和性好、可工业化生产且无工业“三废”等优点^[2-3],是外用给药制剂发展的新方向,极具市场潜力^[4]。故有必要对重楼传统的粉末调敷给药方式进行改革,拟将其研制成巴布剂。

均匀设计法具有均匀分散、整齐可比、试验水平广、试验次数少的优点,适用于基质种类和比例均较多的巴布剂的处方优选^[4]。皂苷类成分为重楼的主要药效物质^[5],在前期已纯化得到重楼总皂苷有效部位的基础上,本实验采用均匀设计法优化重楼总皂苷巴布剂的基质处方,建立其含量测定方法,为该制剂的研制与工业化生产提供参考。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), BT25S 型 1/10 万和 BSA124S 型 1/1 万电子分析天平(德国 Sartorius 公司),DHG9101-1SA 型电热恒温鼓风干燥箱(上海光都仪器设备有限公司),巴布剂涂布器(自制),DRK129 型初黏度测试仪(济南德瑞克有限公司)。明胶、聚丙烯酸钠、甘油及聚乙烯吡咯烷酮-K30(国药集团化学试剂有限公司),甘羟铝(日本协和化学工业株式会社),氮酮(阿拉丁试剂有限公司),无纺布(广州拓广贸易有限公司),重楼总皂苷提取物(自制,纯度 53.1%),重楼皂苷 II, VII 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111591-201103,111593-201303),乙腈为色谱纯,水为双蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 巴布剂的制备 分别称取处方量聚丙烯酸钠、甘油、明胶、甘羟铝、氮酮、聚乙烯吡咯烷酮-K30 及重楼总皂苷提取物。将明胶置于适量水中,在 50 ~

60 °C 水浴中缓慢搅拌至充分溶胀,加入聚乙烯吡咯烷酮-K30,搅拌至基质混合均匀,作为 A 相;将聚丙烯酸钠、甘羟铝加入甘油中,加入适量水,搅拌均匀,作为 B 相;将 A 相缓慢加至 B 相中,搅拌至基质混合均匀,加入重楼总皂苷提取物粉末、氮酮,混合均匀,趁热均匀涂布于无纺布背衬上,厚度约 0.5 mm,放置干燥箱中 50 °C 干燥 2 h,取出,盖上保护膜,置于封口袋中密封保存。

2.2 评价指标选择与评分标准 根据 2010 年版《中国药典》一部附录“贴膏剂”项下凝胶膏剂的质量要求及参照文献[6],选择涂展性(Y_1)、透布性(Y_2)、均匀性(Y_3)、赋形性(Y_4)、皮肤追随性(Y_5)、黏附性(Y_6)及反复揭帖性(Y_7)为评价指标,总评分($Y_{总}$)为 100 分。

2.2.1 涂展性^[6] 抛锚性好易涂布,涂布时膏体不断条为满分 10 分;抛锚性太差无法涂布或涂布时大面积溢出背衬为 0 分。按可涂展性分为 6 个等级,依次为 0,2,4,6,8,10 分。

2.2.2 透布性^[6] 巴布剂涂布一定时间后,无透布者为满分 10 分;涂布后即刻透布,或放置一定时间后透布很严重为 0 分。按透布程度分为 6 个等级,依次为 0,2,4,6,8,10 分。

2.2.3 均匀性^[6] 取成型巴布剂,揭开保护膜,观察制剂外观,色泽均匀、膏体表面光洁、无颗粒感、无明显气泡为满分 10 分;膏体色泽不均匀、表面凹凸不平或有明显结块为 0 分。按均匀程度分为 6 个等级,依次为 0,2,4,6,8,10 分。

2.2.4 赋形性^[1] 参照 2010 年版《中国药典》一部附录 I 1“贴膏剂”赋形性检查法,取成型巴布剂,揭开保护膜,置 37 °C,相对湿度 64% 的恒温恒湿箱中 30 min,取出,用夹子将其固定在一平整钢板上,钢板与水平面的倾斜角 60 度,放置 24 h。膏面无流淌现象为 10 分;有较严重的流淌现象为 0 分,按流淌程度分为 6 个等级,依次为 0,2,4,6,8,10 分。

2.2.5 皮肤追随性^[6] 取成型巴布剂 3 片,每次取 1 片贴于健康成年人的手背弯曲处,用一大小均匀的力量甩动并弯曲 10 次,1 次未脱落者为满分 10 分;不能黏在皮肤上或多次脱落为 0 分。按追随程度分为 6 个等级,依次为 0,2,4,6,8,10 分。

2.2.6 黏附性^[1] 参照 2010 年版《中国药典》一

部附录XII E“贴膏剂”黏附力测定法第一法(初黏力的测定)。取成型巴布剂3片,除去保护膜,使互不重叠在室温放置2 h后,置于与水平成15度的初黏度测试仪不锈钢板中央,膏面向上,斜面上部10 cm和下部15 cm用0.025 mm厚的涤纶薄膜覆盖,中间留出5 cm膏面,将不同规格的钢球自斜面顶端自由滚下,记录可以黏住钢球的质量。钢球号数自8到13号。黏住13号及以上钢球为40分;黏住12号钢球为32分;黏住11号钢球为24分;黏住10号钢球为16分;黏住9号钢球为8分;黏住8号及以下钢球为0分。

2.2.7 反复揭帖性 将巴布剂基质贴于手腕背部,

反复揭帖数次仍可贴附皮肤,膏体去除后皮肤无残留且膏面不破碎,得满分20分;反复揭帖不能贴附皮肤、去除后皮肤残留多且膏面破碎为0分。按揭帖情况分为6个等级,依次为0,2,4,6,8,10分。

2.3 基质处方优选 在查阅文献[6]及预试验基础上,确定重楼总皂苷巴布剂的基质组成为明胶、聚丙烯酸钠、甘油、甘羟铝、聚乙烯吡咯烷酮-K30及氮酮,固定处方中甘羟铝0.16 g,氮酮1.2 g,重楼总皂苷4 g,选择明胶、聚丙烯酸钠、甘油及聚乙烯吡咯烷酮-K30用量为考察因素,选用 $U_8(8^4)$ 均匀设计表,按2.1项下方法制备巴布剂,按2.2项下指标评价巴布剂质量,试验安排及结果见表1。

表1 重楼总皂苷巴布剂基质处方均匀试验安排

No.	X_1 明胶 /g	X_2 聚丙烯酸钠 /g	X_3 甘油 /mL	X_4 聚乙烯吡咯烷酮-K30 /g	涂展性 /分	透布性 /分	均匀性 /分	赋形性 /分	皮肤追随性 /分	黏附性 /分	反复揭帖性 /分	总评分 /分
1	0.5	1.0	10	2.0	2	0	10	6	10	40	0	68
2	1.0	2.0	20	1.75	8	6	10	8	10	40	2	84
3	1.5	3.0	7.5	1.5	2	4	6	10	8	32	8	70
4	2.0	4.0	17.5	1.25	10	10	10	10	10	40	6	96
5	2.5	0.5	5.0	1.0	6	8	10	10	4	16	8	62
6	3.0	1.5	15	0.75	4	8	8	10	8	32	8	78
7	3.5	2.5	2.5	0.5	0	4	2	10	0	0	4	20
8	4.0	3.5	12.5	0.25	4	8	10	10	6	24	8	70

利用SPSS 17.0软件分别对各评价指标进行多元逐步回归,得回归方程 $Y_1 = 0.734X_3$ ($r = 0.734$, $P = 0.038$), $Y_4 = 7.214 + 0.745X_1$ ($r = 0.745$, $P = 0.034$), $Y_5 = 6.100 + 0.645X_3 - 0.507X_1$ ($r = 0.927$, $P = 0.007$), $Y_6 = 24.400 + 0.645X_3 - 0.507X_1$ ($r = 0.927$, $P = 0.007$), $Y_{总} = 34.000 + 0.842X_3$ ($r = 0.842$, $P = 0.009$)。结果表明甘油用量与重楼总皂苷巴布剂的涂布性、皮肤追随性、黏附性及总评分均呈正相关,但甘油用量过大会导致巴布剂赋形性降低和皮肤残留增加,故确定甘油用量15 g。明胶用量与巴布剂的赋形性呈正相关,与皮肤追随性和黏附性呈负相关,综合考虑,明胶用量选择2 g。基质处方对透布性、反复揭帖性的影响较为复杂,但暂未发现他们之间具有显著相关性。直观分析显示,方案4制备的巴布剂综合性能优良,但可能由于其甘油用量过大,导致揭帖时基质残留较多,反复揭帖性受到影响。因此,在方案4的基础上,将甘油用量减至15 g,初步确定基质处方为明胶-聚丙烯酸钠-聚乙烯吡咯烷酮-K30-甘油-甘羟铝-氮酮-重楼总皂苷

(2.0:4.0:1.25:15:0.16:1.2:4)。

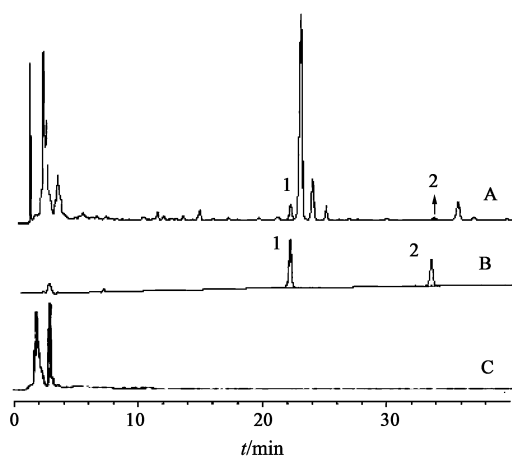
2.4 验证试验 分别取明胶2.0 g,聚丙烯酸钠4.0 g,聚乙烯吡咯烷酮-K30 1.25 g,甘油15 mL,甘羟铝0.16 g,氮酮1.2 mL,重楼总皂苷4 g,按优选的处方工艺制备3批重楼总皂苷巴布剂,结果显示制备的巴布剂性能优良、重复性好。

2.5 重楼皂苷II和重楼皂苷VII的含量测定

2.5.1 色谱条件 Kromasil C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~40 min, 30%~60% A; 40~50 min, 60%~30% A; 50~55 min, 30% A),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长203 nm,柱温30℃,进样量10 μ L,见图1。结果表明指标成分分离度良好且阴性均无干扰。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取重楼皂苷II对照品2.75 mg和重楼皂苷VII对照品4.34 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得混合对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 取重楼总皂苷巴布剂1片(5 cm × 5 cm)约1.0 g,精密称定,置具塞锥形



A. 供试品; B. 对照品; C. 空白样品; 1. 重楼皂苷Ⅶ; 2. 重楼皂苷Ⅱ

图 1 重楼总皂苷巴布剂 HPLC

瓶中,精密加入 75% 甲醇 25 mL,称定质量,超声提取 30 min,放冷,加 75% 甲醇补足减失的质量,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。同法制备缺重楼总皂苷的空白巴布剂供试品溶液。

2.5.4 线性关系考察 取混合对照品溶液,按 2.5.1 项下色谱条件分别进样 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 μL ,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得重楼皂苷 II, VII 的回归方程分别为 $Y = 268.52X - 6.22$ ($r = 1.0000$), $Y = 252.08X - 2.60$ ($r = 0.9999$),线性范围分别为 0.055 ~ 5.5, 0.0868 ~ 8.68 μg 。

2.5.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL ,连续测定 24 h,按 2.5.1 项下色谱条件重复进样 6 次,结果重楼皂苷 II, VII 峰面积的 RSD 分别为 0.43%, 0.62%,表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL ,按 2.5.1 项下色谱条件连续测定 24 h,每 4 h 测定 1 次,结果重楼皂苷 II, VII 峰面积的 RSD 分别为 0.56%, 0.73% ($n = 7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.7 重复性试验 精密称取重楼总皂苷巴布剂 6 份,每份 1.0 g,按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.5.1 项下色谱条件测定,计算重楼皂苷 II, VII 平均质量分数分别为 1.08, 3.72 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 分别为 1.7%, 1.5%,表明该方法重复性良好。

2.5.8 加样回收试验 精密称取已知含量的重楼总皂苷巴布剂 0.5 g,共 6 份,各精密加入 0.107 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 重楼皂苷 II 对照品溶液 5 mL 和 0.178 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 重楼皂苷 VII 对照品溶液 10 mL,加入 75% 甲醇溶液 10 mL,按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.5.1 项下

色谱条件测定,计算回收率,结果见表 2,表明该方法回收率良好。

表 2 重楼总皂苷巴布剂含量测定的加样回收率试验

成分	样品中 量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
重楼皂苷 II	0.557	1.073	96.4	97.8	1.6
	0.549	1.066	96.7		
	0.554	1.074	97.2		
	0.536	1.064	98.6		
	0.530	1.068	100.6		
	0.547	1.069	97.6		
重楼皂苷 VII	1.920	3.635	96.3	98.5	2.3
	1.890	3.702	101.8		
	1.910	3.647	97.7		
	1.850	3.579	97.3		
	1.830	3.552	97.0		
	1.880	3.683	101.1		

注:重楼皂苷 II, VII 的加入量分别为 0.535, 1.78 mg。

2.5.9 样品测定 取 3 个批号重楼总皂苷巴布剂样品各 3 份,每份 1.0 g,精密称定,按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.5.1 项下色谱条件测定,每份进样 2 次,计算 ($\bar{x} \pm s, n = 3$) 样品中重楼皂苷 II 质量分数分别为 (1.08 \pm 0.02), (1.04 \pm 0.05), (1.05 \pm 0.04) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,重楼皂苷 VII 质量分数依次为 (3.72 \pm 0.07), (3.80 \pm 0.06), (3.84 \pm 0.04) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,表明按优选的基质处方制备的巴布剂质量稳定。

3 讨论

制备巴布剂的基质种类繁多且用量各异,加上药物本身性质的差异,使得基质处方成为巴布剂的成型研究的重点和难点。本文通过预试验确定了基质种类,利用均匀设计法优选巴布剂基质配比,以涂展性、透布性、均匀性、赋形性、皮肤追随性、黏附性、反复揭帖性等指标综合评价其成型性,结果制备的巴布剂载药量较大,膏体表面光洁,无透布,黏着力适中,可反复揭帖,涂展性、均匀性和皮肤追随性均较好。

巴布剂基质的添加顺序、水浴温度及搅拌速度对巴布剂的成型影响较大^[5]。2.1 项下各基质添加顺序和水浴温度易于膏体的搅拌和涂布,无拉丝,气泡少,制得的巴布剂膏面平整光滑,富有弹性,黏性适中。此外,重楼总皂苷与大多数其他皂苷类成分一样,溶于水后会形成肥皂状泡沫,使巴布剂基质蓬松而多泡,不利于涂布和干燥成型,故本文选择加入适量氮酮,具有较好的消泡作用,有利于重楼总皂苷

DA-201C型大孔树脂对土鳖虫酶解液的除盐工艺考察

王少平, 曾以旺, 陈燕瑞, 刘国飞, 代龙*
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的:考察 DA-201C 型大孔树脂对土鳖虫酶解液的脱盐纯化效果。方法:采用 DA-201C 型树脂对土鳖虫酶解液进行脱盐试验,通过单因素试验考察上样液 pH 和质量浓度、洗脱剂种类和用量对土鳖虫小肽的影响。通过 folin-酚法测定活性成分小肽含量,检测波长 650 nm,利用电导率测定除盐率。结果:最佳除盐工艺为上样液与树脂柱体积比 1:1,上样液质量浓度 10 mg·L⁻¹,上样液 pH 7.0,吸附流速 1.5 BV·h⁻¹,加水 3 BV 洗除杂,加 75% 乙醇 3 BV 洗脱。除盐率 99.1%,小肽回收率 86.05%。结论:采用 DA-201C 型大孔树脂对土鳖虫酶解液进行纯化除盐处理的方法简便、易行。

[关键词] 除盐; 土鳖虫; 酶解液; 小肽; DA-201C

[中图分类号] R283.6;R284.1;R284.2;R282.74 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0009-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220009

Inspection for Desalting Process of Eupolyphaga Enzymatic Hydrolysate with DA-201C Macroporous Resin

WANG Shao-ping, ZENG Yi-wang, CHEN Yan-rui, LIU Guo-fei, DAI Long*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate desalination purification effect of Eupolyphaga enzymatic hydrolysate by DA-201C macroporous resin. **Method:** Desalination test of Eupolyphaga enzymatic hydrolysate was adopted by DA-201C macroporous resin, effects of pH and concentration of sample solution, type and amount of

[收稿日期] 20140414(003)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103002-021)

[第一作者] 王少平,在读硕士,从事中药新剂型与新药开发研究,Tel:13964178435,E-mail:934988991@qq.com

[通讯作者] *代龙,教授,从事中药新剂型与新药开发研究,Tel:13156189167,E-mail:druglab@sina.com

巴布剂的制备。

巴布剂中含有大量高分子水溶性基质,给其含量测定时样品的前处理带来了较大困难。本文在供试品溶液制备条件的选择中,比较了不同提取溶剂(25% 甲醇,50% 甲醇,75% 甲醇,甲醇,乙醇及正丁醇)、提取方式(回流法、超声法、萃取法)、提取时间(20,30,40,60 min)、溶剂用量(25,50,75 mL)对重楼总皂苷巴布剂中重楼皂苷 II 和重楼皂苷 VII 提取效果的影响,结果表明 2.5.3 项下方法对这 2 种成分的提取效果均较好。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北

京:中国医药科技出版社,2010:附录 9.

- [2] 夏裕发,李煌,张勋,等. 双藤痹痛凝胶膏剂的体外释放及其透皮吸收[J]. 中国医院药学杂志,2013,33(12):925.
- [3] 张洪兵,朱雪瑜,张铁军,等. 星点设计-效应面优化法优选复方止痛巴布剂基质处方[J]. 中草药,2013,44(8):985.
- [4] 张纪兴,王建平,朱峰,等. 均匀设计法优化跌打镇痛巴布剂的基质处方[J]. 中药材,2011,34(6):971.
- [5] 李懿,何佳,赵庭周,等. HPLC 同时测定不同产地滇重楼中的 6 种重楼皂苷[J]. 中成药,2012,34(1):113.
- [6] 鹿静,魏希颖,张琼,等. 灯笼花素巴布剂的处方优选[J]. 中成药,2013,35(3):504.

[责任编辑] 刘德文