

正交试验优选艾蒿黄酮乳膏基质处方

丁洁¹, 王爱霞², 牛犇^{1*}, 梁宁¹, 高俊²

(1. 甘肃省商业科技研究所, 兰州 730020; 2. 甘肃省人民医院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 优选艾蒿黄酮乳膏的基质组成及配比。方法: 以乳膏的外观形状、稳定性、延展性、黏度、显微镜观察及 pH 等为综合评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计对基质中十六醇、十八醇、乳化剂及 1,3-丙二醇的用量进行优化。结果: 艾蒿黄酮乳膏的最佳基质配比为艾蒿总黄酮 0.5%, 十六醇 6%, 十八醇 6%, 乳化剂 8%, 1,3-丙二醇 4%, 尿素 2%, 纯水 64%。结论: 按优选工艺制备的艾蒿黄酮乳膏外观细腻均匀, 黏度及延展性适宜, 性状稳定, 颜色呈亮黄色, 有中药特殊气味, 符合使用要求。

[关键词] 艾蒿黄酮; 痤疮; 乳膏基质; 正交试验; 工艺配比

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0049-04

[doi] 10.11653/zgsyxfjzz2013070049

Optimization of Matrix Formulation of Artemisia Flavonoids Cream by Orthogonal Test

DING Jie¹, WANG Ai-xia², NIU Ben^{1*}, LIANG Ning¹, GAO Jun²

(1. Gansu Institute of Business Technology, Lanzhou 730020, China;

2. Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize matrix composition and ratio of artemisia flavonoids cream. **Method:** $L_9(3^4)$ orthogonal test was employed to investigate effects of four factors including the amount of cetyl alcohol, octadecanol, emulsifiers, 1, 3-propylene glycol on matrix formulation, with appearance, stability, ductility, viscosity, pH value and microscopic observation as comprehensive evaluation index. **Result:** The best proportion of matrix prescription was as following: artemisia flavonoids 0.5%, cetyl alcohol 6%, octadecano 6%, emulsifier 8%, 1, 3-propylene glycol 4%, urea 2%, pure water 64%. **Conclusion:** This prepared cream was fine and uniform with suitable consistence and ductility, stable properties. The color of it was bright yellow, odor was special smell of traditional Chinese medicine, it was in line with the requirements.

[Key words] artemisia flavonoids; acne; cream matrix; orthogonal test; process ratio

[收稿日期] 20121101(004)

[基金项目] 甘肃省科技厅科技开发项目(0805TCYA042)

[第一作者] 丁洁, 助理工程师, 硕士, 从事天然产物研究与开发, Tel:13609304019, E-mail:dingjie860118@163.com

[通讯作者] * 牛犇, 高级工程师, 从事天然产物研究与开发, Tel:0931-8551962, E-mail:lzniuben@163.com

- [6] Li Y L, Fang H, Xu W F. Recent advance in the research of flavonoids as anticancer agents [J]. Mini-Rev Med Chem, 2007, 7(7): 663.
- [7] 熊蔚蔚, 徐铭键, 刘健, 等. 毛樱桃总黄酮超声提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 29.
- [8] Liu W, Yu Y Y, Yang R Z, et al. Optimization of total flavonoid compound extraction from gynura medica leaf using response surface methodology and chemical composition analysis [J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(11): 4750.
- [9] 卢奕, 马力. 响应面法优化松花粉总酚的超声提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 53.
- [10] 徐秀泉, 虞倩, 徐颖. 赶黄草总黄酮超声提取工艺的响应面法优化及其体外抗氧化活性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 38.

[责任编辑 仝燕]

艾蒿为菊科多年生草本植物,全国到处均有分布,其有效成分具有很强的抗菌作用^[1]。艾蒿黄酮具有抗癌作用^[2-4],对血小板聚集有极显著的抑制作用,能增强网状内皮细胞的吞噬功能和促进炎性渗出白细胞吞噬能力^[5-6];同时艾蒿黄酮具有活血化瘀、消肿止疼作用,对痤疮有一定抑制作用^[7-8]。因此,可尝试利用艾蒿黄酮研究开发天然类痤疮治疗药。本实验对经安全评价^[9]后的艾蒿黄酮用于制备抑制痤疮外用乳膏药进行研究,通过正交试验优选其基质配方,为其后续新药开发提供实验依据。

1 材料

FA25 型剪切乳化机(上海弗鲁克流体机械制造有限公司),AD-72 型离心机(上海手术器械十厂),pHS-3C 型酸度计(上海雷磁),DK-S11 型电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司),NDJ-79 型旋转黏度计(同济大学机电厂),GR-184E(A)型冰箱(东芝公司),WL-9000 型伟力精子检测系统,BX60-32FB3-F01 型显微镜(OLYMPUS 公司),XB220A 型分析天平(普利塞斯公司),UV2300 II 型

双光束紫外-可见光光度计(上海天美科学仪器有限公司)。

十六醇(国药集团化学试剂有限公司),十八醇(天津化学试剂二厂),1,3-丙二醇(天津市光复精细化工研究所),尿素(天津市光复科技发展有限公司),聚氧乙烯-21 硬脂醇醚(乳化剂 721,上海高维实业有限公司),有机硅消泡剂乳液(上海高维实业有限公司),艾蒿黄酮(自制,纯度 80.2%),芦丁对照品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,批号 16880000),水为自制纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 艾蒿黄酮乳膏基质的制备 取十六醇、十八醇、乳化剂、艾蒿黄酮作为油相,置于烧杯中水浴加热至约 80 ℃,使之完全熔化,恒温。另取 1,3-丙二醇、尿素、纯水作为水相置于烧杯中,加热溶解,80 ℃左右水浴恒温。在不断搅拌下将相同温度的油相缓慢加入到水相中搅拌至乳化完全,冷却,即得。

2.2 优选指标及评分标准^[10-14] 以乳膏外观性状、离心稳定性、延展性、黏度、乳膏颗粒细腻均匀度及 pH 值为指标对各试验组进行考察。评分标准见表 1。

表 1 艾蒿黄酮乳膏基质处方优选的指标及评分标准

外观性状	离心稳定性	耐热耐寒	延展性/cm	黏度/mpa·s	pH	细腻均匀度
色泽均匀、质地细腻、无颗粒感(16~20分)	无分层、破乳和起泡现象(16~20分)	无分层、结块、膏体变粗、出水等异常现象(9~10分)	6.5~7.5	2 000~3 000(16~20分)	5~8(10分)	均匀(9~10分)
色泽较均匀、质地较细腻、无颗粒感(10~15分)	无分层;无破乳;离心后无泡沫层(10~15分)	无分层、结块、出水,膏体稠度增大(7~8分)	5.5~6.4(7~8分)	1 500~2 000(10~15分)	<5(0分)	较均匀(7~8分)
色泽较均匀、不太细腻,涂布性差,无颗粒感,冷却后勉强成膏状(5~9分)	分层;无破乳;离心后无泡沫层(5~9分)	无分层,有结块、出水现象(5~6分)	4.5~5.4(5~6分)	1 000~1 500(5~9分)	>8(0分)	不均匀(5~6分)
色泽不均匀、不细腻,涂布性差,有颗粒感,冷却呈乳液状(<5分)	分层明显;有破乳;离心后泡沫层(<5分)	有分层、结块、出水现象(<5分)	<4.5, >7.5(<5分)	<1 000, >3 000(<5分)		极不均匀(<5分)

2.3 正交试验设计 除乳化剂的种类和用量对乳膏成品稳定性具有较大影响外,油相中十六醇、十八醇的用量对乳膏成品稳定性影响也较大。因此,将十六醇、十八醇、乳化剂和 1,3-丙二醇的配方用量作为主要考察因素,按 L₉(3⁴)正交表进行配方,配 9 组乳膏基质,依照优选指标和评分标准对 9 组乳膏基质进行各项指标测定、分析。因素水平见表 2,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。各组乳膏稳定性离心结果见图 1。

表 2 艾蒿黄酮乳膏的基质处方正交试验因素水平

水平	A 十六醇 质量分数/%	B 十八醇 质量分数/%	C 乳化剂 质量分数/%	D1,3-丙二醇 质量分数/%
1	4	4	4	4
2	6	6	6	6
3	8	8	8	8

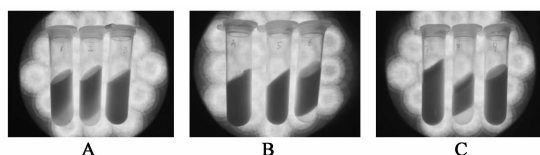
表3 艾蒿黄酮乳膏的基质处方正交试验安排

No.	A	B	C	D	综合评分/分
1	1	1	1	1	25
2	1	2	2	2	62
3	1	3	3	3	72
4	2	1	2	3	74
5	2	2	3	1	95
6	2	3	1	2	20
7	3	1	3	2	79
8	3	2	1	3	22
9	3	3	2	1	90
K_1	53.00	59.33	22.33	70.00	
K_2	63.00	59.67	75.33	53.67	
K_3	63.67	60.67	82.00	56.00	
R	10.67	1.33	59.67	16.33	

表4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	214.222	2	74.151	<0.05
B(误差)	2.889	2	1.000	
C	6413.556	2	2219.992	<0.01
D	468.222	2	162.071	<0.01

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。



A. 试验 1~3; B. 试验 4~6; C. 试验 7~9

图1 艾蒿黄酮乳膏稳定性离心试验

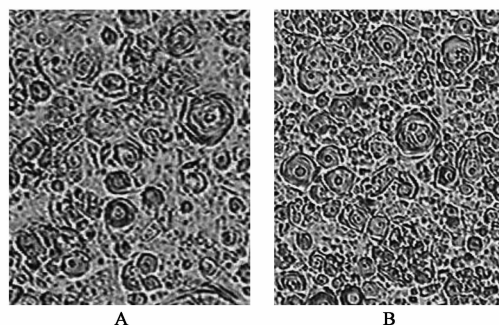
由直观分析可知,各因素对方工艺的影响顺序为 $C > D > A > B$ 。以极值最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果表明因素 C, D 对艾蒿黄酮乳膏处方工艺具有极显著影响, A 因素对结果影响显著。由图1可知,按配方5制备的乳膏稳定性最好。故确定艾蒿黄酮软膏基质的最佳配比为 $A_2B_2C_3D_1$, 即十六醇 6%, 十八醇 6%, 乳化剂 8%, 1,3-丙二醇 4%。

2.4 后续观察

2.4.1 霉变观察 严格控制原料、操作过程、存放器皿的清洁。在室温保存6个月内,药用乳膏基质绝对不允许出现霉变现象。

2.4.2 显微镜检 在相同条件下,同一乳液中,半径小的液珠越多,乳液稳定性越大。但一般 $> 1.0 \mu\text{m}$ 才能形成乳白色乳状液^[15]。对放置3个月后的

乳膏进行镜检。结果显示,稳定性较好的乳膏中,半径小的液珠较多(图2A),稳定较差的乳膏中,半径大的液珠较多(图2B)。

图2 艾蒿黄酮乳膏镜检稳定性对比($\times 100$)

2.5 验证试验 按优选的基质配方比例配制3批乳膏,结果发现3批乳膏的外观性状、延展性、黏度及pH均无明显差别,且均符合要求。显微镜下镜检观察,乳膏细腻均匀,无凝聚现象。符合《中国药典》2010年版中软膏剂要求。

2.6 乳膏中总黄酮含量测定^[14,16-17]

2.6.1 芦丁对照品溶液的制备 准确称取在 120°C 干燥至恒重的芦丁 0.01 g , 置于 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

2.6.2 最大吸收波长的确定 分别取艾蒿黄酮乳膏样品溶液、主药黄酮溶液、芦丁对照品溶液各 1 mL , 分别置于 10 mL 量瓶中,分别加入 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 三氯化铝(甲醇溶液) 1 mL , 用甲醇定容,摇匀,放置 15 min , 同时做空白液对照,于 $220 \sim 500 \text{ nm}$ 扫描。结果表明三氯化铝显色后,在 275 nm 处,芦丁、艾蒿黄酮粉原料和乳膏样品均出现最大吸收峰,且完全重合。

2.6.3 标准曲线的绘制 精确吸取芦丁对照品液 $0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50 \text{ mL}$, 分别置于 10 mL 量瓶中,加 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 三氯化铝 1 mL , 用甲醇定容,摇匀,放置 15 min , 以不加芦丁对照品溶液为空白,于 275 nm 波长下测定吸光度(A)。以 A 为纵坐标,芦丁质量浓度为横坐标,得标准曲线 $Y = 0.5972X + 0.0185 (r = 0.9991)$ 。

2.6.4 样品测定 准确吸取试样溶液和原料黄酮溶液各3份,每份 1 mL , 按2.6.3项下方法显色,测定 A , 计算总黄酮含量。结果原料中总黄酮含量为 $804.35, 798.37, 803.15 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 乳膏样品中总黄酮含量为 $5.38, 5.43, 5.29 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2.7 乳膏基质对药物成分的影响^[18] 乳膏中艾蒿总黄酮质量分数按 0.5% 添加, 黄酮粉质量分数

80.2%,每 1 000 g 乳膏中添加原料黄酮粉 6.8 g,每克乳膏中总黄酮质量 5.45 mg,经三氯化铝显色法测得乳膏中总黄酮含量 $5.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,损失率 1.47%。推断乳膏基质在工艺过程中热处理及剪切处理时对药物成分未构成影响,1.47%的损失有可能为误差或机械损失造成。

3 讨论

按优选处方制备的艾蒿黄酮乳膏光泽度好、易涂抹、易吸收、无油腻感,使患者涂抹后清爽舒适,无显著痕迹,易接受。1,3-丙二醇有促进药物经皮肤吸收作用,有利于艾蒿黄酮渗透皮肤增加对痤疮的抑制效果,且 1,3-丙二醇保湿效果好,能提高乳膏涂抹于皮肤的舒适感。

通过对艾蒿黄酮乳膏安全性评价和药效试验证明^[8-9],艾蒿黄酮对家兔耳试验性角化有一定改善作用,对大鼠血液流变学各项指标也有一定改变,能降低交叉莱胶所致的大鼠足趾肿胀,对抗二甲苯致小鼠耳肿程度,和 2,4-二硝基氯苯(DNCB)诱发的小鼠迟发型超敏反应有一定抑制作用,能降低双侧睾切除雄性大鼠的精囊腺和前列腺质量,说明艾蒿黄酮具有抗睾酮雄激素样作用。从而进一步证明艾蒿黄酮具有活血化瘀消肿止痛和免疫抑制作用。本实验优选的艾蒿黄酮乳膏基质处方,为今后开发用于治疗痤疮的乳膏制备提供实验依据。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1985:560.
[2] Su Youn Nam, Joo Sung Kim, Jung Mogg Kim, et al. A derivative of flavonoid, prevents and ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis and inhibits colon carcinogenesis[J]. *Exp Biol Med*, 2008, 233: 180.
[3] 王洋. 艾蒿中黄酮的抗肿瘤活性[J]. *国外医学·中医中药分册*, 2005, 27(1): 49.

[4] 涂华,陈碧琼,张燕军. 天然类黄酮物质的提取工艺研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(6): 277.
[5] 王新芳,董岩,孔春燕. 艾蒿的化学成分及药理作用研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(2): 174.
[6] 周峰,秦路平,连桂芳,等. 艾叶的化学成分、生物活性和植物资源[J]. *药学实践杂志*, 2000, 18(2): 96.
[7] 牛犇. 艾蒿黄酮的提取工艺及其应用, 中国: ZL 200810018036. 7[P]. 2010-08-11.
[8] 牛犇,王爱霞,梁宁,等. 艾蒿黄酮对实验性痤疮干预作用的初步观察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(17): 192.
[9] 高俊,王爱霞,牛犇,等. 艾蒿黄酮动物(大鼠)长期毒性试验[J]. *兰州大学学报:医学版*, 2012, 38(1): 39.
[10] 孟楣,王晓玉,刘奇斌,等. 星点设计-效应面法优化苦黄软膏基质组方[J]. *中国中医药信息杂志*, 2011, 18(6): 52.
[11] 甄少立. 乳剂型软膏基质黏度的探讨[J]. *中国药学杂志*, 1996, 31(8): 477.
[12] 姜云鹤,裴海清,付远,等. 用正交实验法寻找软膏基质的最佳配比[J]. *中国药事*, 2002, 16(9): 576.
[13] 车斌,黄丽萍. 调节软膏剂黏度与稠度的对策[J]. *海峡药学*, 2004, 16(1): 31.
[14] 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 30, 65.
[15] 唐坤,李标,王伯初. 均匀设计法优化复方蜂胶乳膏的基质组成[J]. *中成药*, 2010, 32(1): 52.
[16] 张明,陈华国,赵超,等. 杠板归中总黄酮的含量测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(18): 77.
[17] 刘璐,付明哲,赵宝玉,等. 急弯棘豆总黄酮含量的紫外分光光度法测定[J]. *动物医学进展*, 2012, 31(11): 59.
[18] 关志宇,陈丽华,王森,等. 黄连软膏制备工艺优选[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(18): 36.

[责任编辑 仝燕]