

天山雪莲透皮微乳制备处方优化

谢敏¹, 邢建国^{2*}, 王新春^{1,3}, 樊鑫梅¹, 马晓莉¹

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004; 3. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832008)

〔摘要〕 目的:优化天山雪莲水包油型微乳处方。方法:以芦丁及绿原酸为指标,采用 HPLC 测定天山雪莲提取物在各溶媒中的溶解度,初步确定处方组成,绘制伪三元相图对方处进行优化,测定优化处方的黏度、平均粒径、粒径分布等理化性质。结果: $K_m=1:2$ 时,伪三元相图形成的微乳区域最大,微乳最佳处方为 RH40-1,2-丙二醇-油酸的比例 4:2:1,微乳平均粒径及黏度符合透皮微乳的要求,在高温、强光下无分层,无絮凝或药物析出。结论:天山雪莲微乳增加了天山雪莲提取物的溶解度,具有粒径小、稳定性好、黏度适宜的特点。

〔关键词〕 天山雪莲;微乳;伪三元相图

〔中图分类号〕 R283.6 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)01-0008-04

Optimization of Preparation Formulation of *Saussurea involucrate* Transdermal Microemulsion

XIE Min¹, XING Jian-guo^{2*}, WANG Xin-chun^{1,3}, FAN Xin-mei¹, MA Xiao-li¹

(1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China; 2. Xinjiang Institute of Meteria, Urumqi 830004, China; 3. First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi 832008, China)

〔Abstract〕 **Objective:**To optimize formulation of O/W microemulsion of *Saussurea involucrate*. **Method:** Both chlorogenic acid and rutin used as indexes, solubility in various solvents of extracts from *S. involucrate* was determined by HPLC, and obtained primary compositions of microemulsion formulation, formulations of *S. involucrate* microemusion was optimized by practicing pseudoternary phase diagram and determined its quality including viscosity, conductivity, refractive index, zeta potentia, particle size distribution respectively. **Result:** Maximum area of microemulsion in pseudo-ternary phase diagrams was obtained when K_m was 1:2. Optimum microemusion formulation was RH 40 as surfactant, alchol as cosurfactant and oleic acid as oil phase with its proporation as 4:2:1. Viscosity and mean particle size of *S. involucrate* microemulsion accorded with requirement of transdermal microemuslion. It was stable under high temperature and strong light condition(non-hierarchical, non-flocculation or precipitation of drug). **Conclusion:** Solubility of extracts from *S. involucrate* was improved by microemulsion. This microemulsion had characteristics of small particle, stability and suitable viscosity etc.

〔Key words〕 *Saussurea involucrate*; microemusion; pseudotertiary phase diagrams

天山雪莲 *Saussurea involucrate* 是菊科凤毛菊属多年生草本植物,是维吾尔医常用的民族药,具有消炎镇痛、消肿、活血化瘀等作用^[1]。绿原酸及芦丁是天山雪莲提取物中主要的活性成分^[2-3]。为开发

〔收稿日期〕 20110811(004)
〔基金项目〕 自治区科技支疆计划项目(201091156)
〔第一作者〕 谢敏,硕士研究生,从事中西药物新制剂与新剂型研究,E-mail:yuye301@163.com
〔通讯作者〕 *邢建国,研究员,硕士生导师,从事中西药物新制剂与新剂型研究,Tel:0991-2300682,E-mail:xjguodd@163.com

维吾尔药透皮新制剂,课题组以天山雪莲为模型药物,已相继开展了天山雪莲巴布剂^[4]及凝胶剂^[5]的相关研究。利用纳米透皮技术的研究成果,进行天山雪莲新型纳米透皮制剂的研究是维吾尔药透皮制剂研究的新课题。

微乳作为一种新型的药物载体,具有提高难溶性药物溶解度、促进药物透皮吸收的特性,其粒径一般小于 100 nm,制备工艺简单,近年来成为经皮给药研究的热点^[6-7]。本试验以微乳为载体,根据天山雪莲主要成分的性质,以油酸为油相、聚氧乙烯氢化蓖麻油(RH-40)为表面活性剂、乙醇为助表面活性剂,制备了天山雪莲微乳,为研制天山雪莲微乳经皮给药新制剂奠定基础。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津),HJ27 型六联恒温磁力搅拌器(金坛市华峰仪器有限公司),AE 型 1/200 万电子天平(梅特勒托利多仪器上海有限公司),DDS-11A 型电导率仪(上海雷磁仪器厂),NDJ21 型旋转黏度计(上海精密科学仪器有限公司),DFG2781 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110753-200413),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200707),天山雪莲提取物(新疆自治区药物研究所),肉豆蔻酸异丙酯(IPM,浙江物美化学品有限公司),聚山梨醇脂 80(Tween-80)、油酸(OA)、油酸乙酯(EO)购于天津市光复精细化工研究所,聚氧乙烯氢化蓖麻油(Cremophor RH-40)、聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor EL-35)购于德国 BASF 公司),无水乙醇、异丙醇、1,2-丙二醇、磷酸、甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.4% 磷酸梯度洗脱(0 ~ 13 min, 10% ~ 12% 乙腈, 16 ~ 40 min, 15% 乙腈),检测波长 353 nm,柱温 35 ℃,流速 1 mL · min⁻¹,进样量 10 μL。

2.1.2 标准曲线的制备 分别取绿原酸、芦丁对照品适量,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,加入甲醇至刻度制成含绿原酸 48 mg · L⁻¹、芦丁 60 mg · L⁻¹ 的贮备液。精密吸取对照品储备液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL 至 10 mL 棕色量瓶,甲醇定容,摇匀,制成系列质量浓度的混合对照品,以峰面积(A)为纵

坐标,绿原酸、芦丁质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线,并进行线性回归。绿原酸回归方程为 $A = 60\,045C - 23\,512$ ($r = 0.999\,9$),在 1.2 ~ 19.2 mg · L⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系;芦丁回归方程为 $A = 126\,452C - 16\,150$ ($r = 0.999\,9$),在 1.625 ~ 26.0 mg · L⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.3 精密度考察 精密吸取同一对照品溶液 10 μL,按上述色谱条件,重复进样 6 次,分别测定绿原酸及芦丁峰面积值,结果绿原酸峰面积值 RSD 0.32%;芦丁峰面积值 RSD 0.46%,表明仪器精密度良好。

2.1.4 回收率试验 分别精密量取高、中、低质量浓度的芦丁和绿原酸对照品溶液适量,置于 10 mL 量瓶中,用空白微乳稀释液定容至刻度,摇匀过滤,取续滤液进行色谱分析,计算回收率。结果低、中、高质量浓度的芦丁对照品溶液的回收率分别为 98.07%, 99.26%, 99.55%, RSD 分别为 1.31%, 1.04%, 0.98%;低、中、高浓度的绿原酸对照品溶液的回收率分别为 98.33%, 99.72%, 100.47%, RSD 分别为 2.39%, 1.63%, 1.45%。

2.2 天山雪莲微乳处方的优化^[7-8]

2.2.1 溶解度的测定 将过量的天山雪莲提取物分别加入盛有 2 mL 的各种油、表面活性剂(surfactant, SA)、助表面活性剂(cosurfactant, CoSA)中,60 ℃水浴中涡旋搅拌以利于溶解,然后在 37 ℃恒温水浴振荡仪中避光振摇 48 h, 12 000 r · min⁻¹,离心 20 min,取上清液,用甲醇稀释到适宜的倍数,HPLC 测定。结果见表 1。

表 1 天山雪莲提取物在不同溶剂中的溶解度(37 ℃, n = 3)

类别	溶剂	溶解度/mg · L ⁻¹	
		绿原酸	芦丁
油相	IPM	1.41	4.04
	OA	1.12	3.45
	EO	1.03	2.46
表面活性剂	ELP	378.08	899.60
	RH 40	349.73	825.82
	Twen-80	250.17	595.25
助表面活性剂	乙醇	612.28	1 548.48
	异丙醇	533.58	1 345.41
	1,2-丙二醇	1 610.88	4 247.33

由 1 表可知,提取物在 3 种油相、2 种表面活性剂中的溶解度无显著差异,在助表面活性剂 1,2-丙二醇中的溶解度较大,故分别以 IPM, OA, EO 为油

相,ELP,RH 40 为表面活性剂,1,2-丙二醇为助表面活性剂进行处方筛选预试验。

2.2.2 伪三元相图法确定空白微乳处方^[9] 分别以 IPM,OA,EO 油相,ELP,RH 40 表面活性剂,设定表面活性剂与助表面活性剂的质量比(S/CoS)即 $K_m = 1:1$,1,2-丙二醇为助表面活性剂,制备空白微乳。结果表明以 OA 为油相,RH 40 为表面活性剂,1,2-丙二醇助表面活性剂,能够形成均一、透明、稳定的微乳。故分别考察表面活性剂与助表面活性剂比例(K_m) = 1:1,1:2,1:3 时,与油相按质量比 9:1,8.5:1.5,8:2,7.5:2.5,7:3,6.5:3.5,6:4,5.5:4.5,

5:5,4:6 准确称取后,混合,总质量为 2 g,置 20 mL 具塞安剖瓶中,混匀。于室温下,300 r·min⁻¹ 搅拌,同时逐滴加入蒸馏水,当体系澄清透明、黏度突然降低,电导率开始下降^[7]时,记录恰好形成 O/W 型微乳时的临界点水量,并计算体系中各成分的质量百分比。用 Origin 7.5 软件,按油、水、混合表面活性剂在临界点的质量分数绘制经典的伪三元相图。相图中 ME 表示微乳区,LG 表示凝胶区。结果见图 1,微乳区在 $K_m = 1:2$ 时最大,固将最佳 K_m 值确定为 1:2。

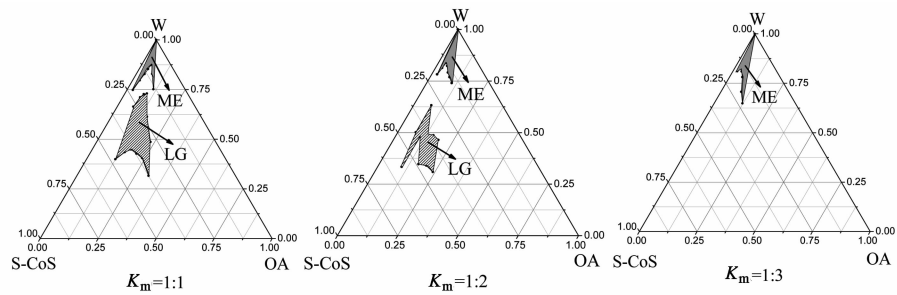


图 1 不同 K_m 对天山雪莲微乳的影响

2.2.3 天山雪莲载药微乳的制备 取天山雪莲提取物加至空白微乳中,于室温 300 r·min⁻¹ 搅拌,使溶解,同时逐滴加入蒸馏水至 100%,即得。天山雪莲微乳中含有表面活性剂(RH 40) 11.3%、助表面活性剂(1,2-丙二醇) 5.7%、油(OA) 3.0%。该处方制备的天山雪莲微乳外观呈红棕色,均一透明,流动性好。

2.3 天山雪莲微乳质量评价

2.3.1 结构类型的鉴别 微乳类型的鉴别采用染色法,利用红色油性染料苏丹红Ⅲ和蓝色水溶性染料亚甲基兰在微乳中扩散快慢来判断,结果蓝色的扩散速度大于红色,为 O/W 型微乳。

2.3.2 粒径及其分布 取稀释 5 倍的天山雪莲微乳 50 mL,在 25 ℃ 下,用激光粒度分析仪测定其粒径大小及分布。结果天山雪莲微乳平均粒径为 28.85 nm, PDI 0.282,符合纳米透皮粒径的分布要求。

2.3.3 黏度的测定 按照《中国药典》黏度测定法第二法,采用 NDJ-8S 型数显旋转黏度计、0 号转子和低黏度附件,在 (25 ± 1) ℃ 下测定天山雪莲微乳的黏度为 10.27 mPa·s。

2.3.4 稳定性考察 采用留样观察法考察,取天山雪莲微乳 3 批,分别存于 10 mL 西林瓶中,置 25 ℃、相对湿度 75% 条件下,放置 0,1,2,3 个月,取样品

进行外观、黏度考察和含量测定。结果微乳仍保持澄清透明,未见油水分层,其黏度以及含量无明显变化。

3 讨论

在 O/W 型微乳成型临界点的判断中,目测法存在结果波动性大、试验重复性差等问题,特别是对判断标准的认识不一致,影响微乳的处方筛选。电导率^[10]被广泛应用于微乳的相行为及结构研究。在微乳的制备过程中,随着含水量的增加,电导率随着微乳液结构及相行为的改变发生同步变化,同时已有文献^[11]明确指出 W/O→O/W 型体系转换的结构转变点。而微乳相行为及结构的改变即为微乳类型(W/O、双连续、O/W 型、凝胶区等)的相互逐步转换过程,因此本试验在空白微乳处方研究中,以电导率的变化特征确定各种类型微乳相互转换的动态变化过程,更具客观、准确性。

在微乳体系中,只有表面活性剂和助表面活性剂达到最佳嵌合比(S/CoS),即达到最佳的 K_m ,才能形成均一稳定的微乳。本实验中分别尝试了 $K_m = 2:1$, $K_m = 1:1$, $K_m = 1:2$, $K_m = 1:3$, $K_m = 1:4$ 对微乳形成的影响,结果表明当 $K_m = 2:1$,微乳形成过程中极易形成凝胶,黏度较大,不利于工业生产;而 $K_m = 1:4$,形成的微乳极不稳定,静置 48 h 就会分层、絮凝,故选择 $K_m = 1:1$, $K_m = 1:2$, $K_m = 1:3$ 进行

响应曲面法优化微波辅助提取淫羊藿中淫羊藿苷工艺

梁新丽,王春柳,王光发,赵国巍,廖正根*,杨明
(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004)

[摘要] 目的:探讨微波辅助提取技术在叶类中药材中的适宜性。方法:以淫羊藿为例,采用 Box-Behnken 设计考察微波功率、料液比和提取时间 3 个因素对淫羊藿苷提取率及干浸膏得率的影响,采用响应曲面法优化微波辅助提取淫羊藿苷得提取工艺,并与传统提取工艺比较。结果:淫羊藿苷提取率和干浸膏得率与所考察 3 因素之间关系符合二次模型。确定最佳提取工艺为微波功率 800 W,料液比 1:16,提取时间 37 min。该条件下淫羊藿苷提取率 84.53%,干浸膏得率 22.47%。结论:微波辅助提取淫羊藿苷具有时间短、提取率高、化学特征峰无差异、能量消耗更低等特点,微波辅助技术适用于淫羊藿等叶类药材的提取。

[关键词] 微波辅助提取;淫羊藿苷;响应曲面法;Box-Behnken 设计

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)01-0011-05

Optimization of Microwave-assisted Extraction Process for Icariin from Epimedium by Response Surface Methodology

LIANG Xin-li, WANG Chun-liu, WANG Guang-fa, ZHAO Guo-wei, LIAO Zheng-gen*, YANG Ming
(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Nanchang 330004, China)

[Abstract] Objective: To investigate suitability of microwave-assisted extraction technology used in leaf

[收稿日期] 20110911(001)
[基金项目] 863 计划中药生产创新工艺及装备研发项目(2009AA043202)
[第一作者] 梁新丽,硕士研究生,从事药物新剂型与新技术研究,Tel:0791-87119190,E-mail:paln7@163.com
[通讯作者] *廖正根,教授,博士,从事药物新剂型与新技术研究,Tel:0791-87119011,E-mail:lyzlyg@163.com

深入研究。最终确定 $K_m = 1:2$ 时,微乳区面积最大,并且能够形成均一、透明、稳定的微乳。

[参考文献]

[1] 中国药典. 二部[S]. 2005:36.

[2] 翟科峰,段红,邢建国,等. 天山雪莲提取物纯化后各部位抗炎镇痛作用[J]. 中国医院药学杂志,2010,30 (5):374.

[3] 翟科峰,邢建国,杨伟俊,等. HPLC 法同时测定天山雪莲中紫丁香苷,绿原酸和芦丁的含量[J]. 药物分析杂志,2008,28(5):762.

[4] 邢建国,翟科峰,王新春,等. 透皮促进剂对天山雪莲巴布剂中三种有效成分经皮渗透的影响[J]. 中国中药杂志,2009,34(11):45.

[5] 黄贤惠,邢建国,王新春,等. 正交设计法优选天山雪莲凝胶剂基质处方[J]. 中国中药杂志,2010,35 (14):1803.

[6] 张立超,胡晋红. 微乳透皮给药系统的研究进展[J]. 国外医学:药学分册,2004,31 (1):44.

[7] 张旭,欧阳五庆,陈建民,等. 复方蜂胶纳米乳的制备及其品质评价[J]. 西北农业学报,2010,35(4):24.

[8] 吴旭锦,欧阳五庆,朱小甫. 黄芩苷纳米乳的制备[J]. 精细化工,2007,24(5):470.

[9] 曹发昊,欧阳五庆,王艳萍. 人参皂苷纳米乳的制备及其免疫佐剂效应研究[J]. 中国中药杂志,2010,35 (4):439.

[10] 向大位,唐甜甜,彭金飞,等. 电导率-含水量曲线法与目测法确定 O/W 型微乳成型临界值的比较[J]. 药学学报,2010,45 (8):1052.

[11] Sun H, Lu F S, Zhao H. Phase behavior and structural transitions in fenvalerate microemulsion[J]. Chin J Appl Chem,2005,22:780.

[责任编辑 仝燕]