

- [6] GHEBREMESKEL A N, VEMAVARAPU C, LODAYA M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability [J]. *Int J Pharm*, 2007, 328(2): 119-129.
- [7] REPKA M A, MCGINITY J W. Bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose topical films produced by hot-melt extrusion [J]. *J Control Release*, 2001, 70(3): 341-351.
- [8] CROWLEY M M, FREDERSDORF A, SCHROEDER B, et al. The influence of guaifenesin and ketoprofen on the properties of hot-melt extruded polyethylene oxide films [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2004, 22(5): 409-418.
- [9] ZHU H Y, FANG Z J, SUN J, et al. Application of hot melt granulation in oral solid dosage forms [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2011, 28(7): 622-629.
- [10] FORSTER A, HEMPENSTALL J, TUCKER I, et al. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs by solubility parameter calculation and thermal analysis[J].*Int J Pharm*, 2001, 226(1/2): 147-161.
- [11] YANG R, TANG X, HUANG H F. A preliminary evaluation of hot melt extrusion technology on improvement of silimarin dissolution [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2005, 14(11): 60-63.

收稿日期: 2012-03-05

蛇床子素水凝胶栓的研制及含量测定

高捷¹, 常忆凌¹, 单伟光²(1.浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100; 2.浙江工业大学, 杭州 310014)

摘要: 目的 制备蛇床子素水凝胶栓, 并建立其含量测定方法。方法 用正交设计法筛选得到最佳处方, 采用 HPLC 测定蛇床子素水凝胶栓的含量。结果 蛇床子素水凝胶栓剂的最佳处方为: 海藻酸钠 0.4 g、吐温-80 2.4 g、单硬脂酸甘油酯 1.2 g、卡波姆 0.4 g。该处方条件下, 3 批栓剂样品的蛇床子素含量分别为每颗 13.23, 13.95, 13.19 mg。结论 该处方设计合理, 含量测定方法操作简便、快速准确。

关键词: 卡波姆; 水凝胶; 栓剂; 正交设计; 含量测定

中图分类号: R943; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)11-1006-04

Preparation and Content Determination of Osthole Aquogel Suppository

GAO Jie¹, CHANG Yiling¹, SHAN Weiguang²(1.Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; 2.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To preparation of osthole aquogel suppository and to establish its assay method. **METHODS** The optimal formula was optimized by orthogonal experiment and the content of osthole aquogel suppository was determined by HPLC. **RESULTS** The optimized formula was as follows: sodium alginate 0.4 g, Tween-80 2.4 g, glycerol monostearate 1.2 g, carbomer 0.4 g. With the optimal formula, the content of osthole in 3 batches of suppositories were 13.23, 13.95, 13.19 mg, respectively. **CONCLUSION** The design of the formula is reasonable, the method for assaying is simple, fast and accurate.

KEY WORDS: carbomer; aquogel; suppository; orthogonal design; content dertermination

中药蛇床子具有杀虫止痒的作用, 以蛇床子原药材及以蛇床子素为提取物制成的多种复方制剂在临床上作为治疗阴道炎的常用药物已有较长的时间。但是, 普通口服制剂全身给药, 不良反应和剂量较大, 做成阴道栓剂能显著改善这种状况, 而普通栓剂因为药物释放快, 使得药物在阴道局部的浓度不够稳定, 也不利于治疗阴道炎这种长期反复的疾病。因此, 本实验采用正交设计优选处方制备蛇床子素水凝胶栓, 并确立了高效液相色谱法测定其含量。该方法操作简便、专属性强、

回收率高, 适用于控制蛇床子素水凝胶栓剂的质量, 具有一定的理论与实际应用价值^[1-4]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AL204 分析天平(梅特勒-托得多仪器有限公司); ALpHA2-4 冷冻干燥机(北京博励仪器有限公司); U3000 高效液相色谱仪(美国戴安)。

1.2 试剂

蛇床子素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110822-200406, 纯度: 100%); 蛇床子素

作者简介: 高捷, 女, 实验师 Tel: (0574)88223359 E-mail: gj3029@163.com

结晶(自制); 色谱级甲醇(天津四友), 其他试剂均为分析纯。卡波姆-940(USA)、海藻酸钠(温州东升化工试剂厂)、单硬脂酸甘油酯(上海展云化工有限公司); 吐温-80(国药集团)。

2 蛇床子素水凝胶栓的制备

2.1 因素与水平^[5-9]

根据预实验结果, 确定卡波姆、海藻酸钠、吐温-80、单硬脂酸甘油酯等为考察因素。因素水平见表 1。

表 1 实验因素及水平

Tab 1 Experimental factors and levels

因素	A	B	C	D
	海藻酸钠/g	吐温-80/g	单硬脂酸甘油酯/g	卡波姆-940/g
1	0.2	0.8	1.2	0.35
2	0.4	1.6	1.6	0.40
3	0.6	2.4	2.4	0.45

2.2 正交试验

按 $L_9(3^4)$ 正交表设计进行实验, 以外观、硬度及蛇床子素释放度(释放度采用中国药典 2010 年版溶出度测定法第一法操作)为考察指标, 对蛇床子素水凝胶栓剂处方进行筛选。结果见表 2。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验筛选蛇床子素水凝胶栓剂处方

Tab 2 Formulation screening of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment for osthole aquogel suppository

试验号	因素				外观及硬度	释放度/%
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	不合格	45
2	1	2	2	2	不合格	50
3	1	3	3	3	合格	54
4	2	1	2	3	合格	50
5	2	2	3	1	合格	67
6	2	3	1	2	合格	74
7	3	1	3	2	合格	47
8	3	2	1	3	合格	62
9	3	3	2	1	合格	65
K ₁	0.497	0.473	0.603	0.590		
K ₂	0.637	0.597	0.550	0.570		
K ₃	0.580	0.643	0.560	0.553		
R	0.140	0.170	0.053	0.037		

由结果可知, 在试验范围内, 海藻酸钠和吐温-80 的用量对实验结果影响较大, 为主要影响因素。

2.3 方差分析

通过方差分析结果表明, 在试验范围内, 影

响因素海藻酸钠和吐温-80 的用量影响差异有统计学意义, 其优选的最佳处方为 $A_2B_3C_1D_2$, 结果见表 3。

表 3 方差分析结果

Tab 3 The results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F 比值	F 值临界值	显著性
A	0.030	2	15.000	9.000	*
B	0.046	2	23.000	9.000	*
C	0.005	2	2.500	9.000	
D	0.002	2	1.000	9.000	
误差	0.001	2			

2.4 处方

根据正交试验, 可得出最佳处方: 卡波姆-940 0.4 g, 氢氧化钠 0.16 g, 吐温-80 2.4 g, 单硬脂酸甘油酯 1.2 g, 海藻酸钠 0.4 g, 蒸馏水至 28 g, 蛇床子素 0.128 g, 无水乙醇 1 mL。

2.5 制备

按“2.4”项下的处方比例将卡波姆-940 溶胀于适量水中, 待充分溶胀, 再加入其他成分, 混合并加热使溶解。

称取蛇床子素晶体溶于无水乙醇中, 与空白凝胶混合均匀, 倾入涂有液体石蜡的模具中, 先冷冻, 再通过冷冻干燥器真空干燥, 即得蛇床子素水凝胶栓, 放入干燥器内备用。

2.6 验证实验

按“2.4”项下处方和“2.5”项下制备方法进行试验, 平行实验 3 次。结果 3 次实验制得蛇床子素水凝胶栓剂外观和硬度与正交试验各工艺比较相对较好, 平均累积释放度 76%。

3 蛇床子素水凝胶栓的含量测定^[10-15]

3.1 色谱条件

色谱柱: Acclaim C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(75:25); 检测波长: 320 nm; 柱温: 25 °C, 进样量: 20 μL; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 用面积外标法定量。

3.2 溶液的制备

3.2.1 样品溶液的制备 取同一批栓剂 6 颗, 剪碎, 混匀, 取平均 1 颗的量, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密量取甲醇 100 mL, 于水浴(40 ± 1)°C 加热, 再超声 30 min, 放置过夜, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 25 mL 量瓶, 用甲醇稀释到刻度, 摇匀, 作为样品溶液。

3.2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重

的蛇床子素对照品 5 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用乙醇溶解稀释至刻度, 并摇匀, 再精密吸取 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 并摇匀, 作为对照品溶液。

3.2.3 阴性样品溶液的制备 按“2.4”项下处方制备不含蛇床子素结晶的空白水凝胶栓, 按“3.2.1”项下方法制备阴性样品溶液。

3.3 方法可行性考察

按“3.1”项下色谱条件, 分别取蛇床子素对照品溶液、样品溶液、阴性样品溶液进样 20 μL , 进行 HPLC 分析。结果见图 1。

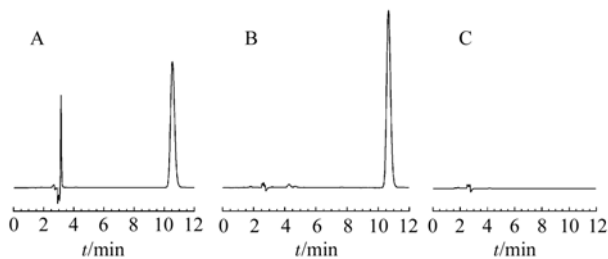


图 1 HPLC 色谱图

A-对照品; B-样品; C-阴性样品

Fig 1 HPLC chromatogram

A-reference substance; B-sample; C-negative sample

由色谱图可知, 在 10.5 min 附近阴性样品对蛇床子素的测定没有干扰, 并且蛇床子素与其他组分分离较好, 说明在该方法中以蛇床子素含量作为蛇床子素水凝胶栓剂含量控制的指标是可行的。

3.4 标准曲线及线性关系

分别精密吸取“3.2.2”项下的对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 10 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加乙醇稀释到刻度, 并摇匀。得到浓度依次为 1, 2, 4, 8, 16, 32, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品系列溶液。

按“3.1”项下色谱条件, 分别进样, 记录峰面积, 以所得蛇床子素峰面积为纵坐标, 蛇床子素浓度为横坐标作线性回归, 得出回归方程和相关系数为: $Y=1.198X-0.033$, $r=0.9999$ ($n=7$)。说明蛇床子素在 1~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与峰面积呈现良好的线性关系。

3.5 仪器适应性试验

分别精密吸取蛇床子素对照品溶液和样品溶液各 20 μL , 连续测定 5 次, 结果 RSD 分别为 0.083%, 0.073%, 说明仪器精密度良好, 此方法可用于样品含量测定。

3.6 稳定性试验

取同一样品溶液, 在常温下放置 8 h, 每间隔 2 h 测定 1 次, 连续共测定 5 次。结果蛇床子素峰面积的 RSD 为 0.22%, 说明样品溶液在 8 h 内稳定。

3.7 重复性试验

取样品 5 份, 按“3.2.1”项下方法制备及测试条件平行测定, 进样 20 μL , 测得样品溶液中蛇床子素平均含量为 13.19 mg, RSD 为 0.17% ($n=5$)。表明该方法重复性良好, 可用于样品含量测定。

3.8 加样回收率试验

取已知含量的样品, 精密称定, 加入一定量的对照品, 按“3.2.1”项下方法处理, 依法测定, 并计算蛇床子素回收率。结果见表 4。

表 4 蛇床子素加样回收试验结果

Tab 4 Recovery test of suppositories

序号	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1	1.638	0.280	1.874 8	97.75		
2	1.633	0.280	1.850 6	96.74		
3	1.636	0.280	1.868 9	97.54	98.68	1.53
4	1.656	0.280	1.935 7	99.98		
5	1.659	0.280	1.943 2	100.21		
6	1.662	0.280	1.939 1	99.85		

由结果可知, 平均回收率为 98.68%, RSD=1.53% ($n=6$), 加样回收率良好, 此方法可靠。

3.9 含量测定

取蛇床子素水凝胶栓剂样品 3 批, 按以上条件测定。暂定本品每颗含蛇床子素为 $(13.1 \pm 1)\text{mg}$ 。实际测得 3 批样品中蛇床子素含量分别为 13.23, 13.95, 13.19 mg, 结果表明 3 批样品的蛇床子素含量均高于 13.1 $\text{mg}\cdot\text{颗}^{-1}$ 。

4 讨论

以卡波姆为水凝胶栓剂基质, 辅以表面活性剂吐温-80、单硬脂酸甘油酯协同, 将蛇床子素分散在卡波姆凝胶基质中, 促进水凝胶栓剂的成型, 并以氢氧化钠中和调节 pH 值使与阴道环境用药相符。

在本试验条件下按优选处方确定了相关制备工艺, 并采用冷冻干燥法, 使水分升华, 克服了由于卡波姆形成的凝胶具有一定的黏稠而造成制成的栓剂在常温下成形不佳的弱点, 促进了栓剂更好的成型。制成的蛇床子素水凝胶栓剂释放度较好, 较好地增强了药物蛇床子素在阴道环境的黏附性和停留时间, 提高了局部药物浓度。

含量测定中, 本试验所确定的色谱条件下, 蛇床子素与其他组分能达到基线分离, 理论板数按蛇床子素计>3 000。本次试验结果表明, HPLC测定蛇床子素水凝胶栓剂的含量, 操作简便, 专属性强, 分离效果好。

REFERENCES

- [1] DONG X. Study of Fructus Cnidii [J]. Jilin J Tradit Chin Med(吉林中医药), 2006, 26(3): 58-59.
- [2] SONG T C, LIU K, WANG L H. Preparation and clinical of Fuyanxiao suppository [J]. Bethune Univ Medical Sci(白求恩医科大学学报), 2001(2): 177.
- [3] MA Y M. Pharmacologic progress and formulation development of osthol [J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2008, 2(15): 112-114.
- [4] XIE D. Research progress and clinical application of gels [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2006, 18(4): 42-44.
- [5] QIAN J R. Carbomer gel and its application [J]. China Pharm(中国药业), 2003, 12(6): 77.
- [6] DING J S, YAN J, LI H D. Study on formulations and *in vitro* drug release of sustained-release bioadhesive danazol suppository [J]. China Pharm(中国药房), 2003, 5(14): 256-257.
- [7] LU B. New Technology and Dodge Form(药物新剂型与新技术) [M]. Beijing: People Hygiene Press, 1998.
- [8] WANG S P, CHEN H, ZHANG L, et al. Study on the technique of preparing She Chuang Zi suppository [J]. Acta Acad Med Cpapf(武警医学院学报), 2007, 16(1): 57-59.
- [9] ZHOU X M, XIN Z M. Carbomer gel and formulation design in a gel [J]. China Pharm(中国药师), 1998, 1(3): 130-131.
- [10] SHANG F, WANG Y X. Determination of osthol in sea burchthorn seed oil by HPLC [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2006, 21(4): 147-148.
- [11] GUO L P. Determination of osthol in Fructus Cnidii pieces by HPLC [J]. J Med Forum(医药论坛杂志), 2007, 28(21): 105-106.
- [12] WANG S P. Compound Fructus Cnidii suppositories [D]. Hebei: Medical University, 2006.
- [13] XU Y M, XIAO Z D. Determination of osthol in Jieryin lotion by HPLC [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2002, 33(4): 176-178.
- [14] HUANG Z H, MO J L, HUANG Z F. Determination of osthol in lotion by HPLC [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2005, 28(5): 428.
- [15] LIU X Y, WU F. Determination of osthol in lotto Fructus Cnidii Composita by RP-HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2001, 32(9): 790-793.

收稿日期: 2012-03-22

本刊参考文献标注说明

参考文献必须以作者亲自阅读过的近年主要公开文献为限。勿引内部资料和教科书。“未发表的观察资料”和“个人通讯”不能列为参考文献。书面通讯和内部资料可用圆括号插入正文。正文中引用中文作者姓名时, 应写全名, 勿写×氏。参考文献序号加[], 其格式与标点符号要严格按本刊规定。参考文献全部改为英文, 具体举例如下:

[期刊]作者(3人以下全列, 3人以上列3人后加et al). 题名[J]. 刊名, 年, 卷(期): 起页-迄页.

英文期刊: PALMISANO G L, TAZZARI P L, COZZI E, et al. Expression of CTLA-4 in nonhuman primate lymphocytes and its use as a potential target for specific immunotoxin-mediated apoptosis: results of *in vitro* studies [J]. Clin Exp Immunol, 2004, 135(2): 259-266.

中文期刊: ZHANG Y J, WANG Y L. Effect of dipfluzine on neuronal apoptosis in the rat hippocampal CA1 region subjected to transient forebrain isehemia [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2004, 39(3): 189-192.

[专著]作者. 书名[M]. 卷. 版次. 出版地: 出版社(商), 年: 起页-迄页或作者(主编或章节作者). 题名[M]//主编者. 书名. 卷. 版次. 出版地: 出版社(商), 年: 起页-迄页.

中文专著: YU D Q, YANG J S. Handbook of Analytical Chemistry(分析化学手册) [M]. Vol 7. Beijing: Chemical Industry Press, 1999: 492.

英文专著: PEEBLES P Z. Probability, Random Variable, and Random Signal Principles [M]. 4th. ed. New York: McGraw Hill, 2001.

[专利]专利申请者. 专利题名: 专利国别, 专利号[P]. 公告日期或公开日期.

专利文献: JIANG X Z. Manufactural method for a warm external medicament: China, 88105607.3 [P]. 1989-07-26.

[国际、国家标准]标准编号, 标准名称[S]. 年: 起页-迄页.

例: Ch.P(2005)Vol II(中国药典 2005年版. 二部) [S]. 2005: 84-85.