



落地生根乳剂的制备

刘遥燕,张 苗,张 影,常维毅

(吉林农业科技学院 制药工程学院,吉林 吉林 132101)

摘要:为开发落地生根的制药方法,以落地生根提取物为主药,通过正交试验筛选出乳剂的最佳制备工艺。选用水中乳化法,以均匀性、黏度、涂展性的综合评价为指标确定落地生根乳剂最佳的处方和制备工艺。结果表明:确定最佳处方为落地生根 80.0 g,尼泊金乙酯 1.0 g,冰片 7.0 g,薄荷脑 7.2 g,卡波姆 4.8 g,95%乙醇 800 mL,纯化水 4 000 mL。用此方法制备的落地生根乳剂分散均匀,工艺稳定,涂展性好,小鼠皮肤刺激性试验结果安全。

关键词:落地生根;乳剂;制备工艺

落地生根(*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken)为景天科落地生根属植物,以全草入药,别名有“打不死”“花蝴蝶”等,全年可采,性味淡、微酸、涩、凉,归肺、肾经,具有解毒消肿、活血止痛、拔毒生肌的功效。民间外用治痈疮肿毒,乳腺炎,丹毒,瘰疬,外伤出血,跌打损伤,骨折,烧烫伤,中耳炎^[1]。

研究表明,落地生根中化学成分种类多样,如黄酮类、酸类、萜类等,其中黄酮类化合物为主要成分^[2-3]。具有增强机体免疫功能、抗炎、镇痛、抗氧化、抗菌等药理活性^[3-7]。本文以落地生根鲜叶为主要原料,提取后加入相关辅料,完成其乳剂的制备工艺,同时进行皮肤安全性初步评价,为落地

生根资源在兽药方面的进一步开发利用提供药用基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试落地生根购自安徽邻家园艺有限公司,经吉林农业科技学院李赫男鉴定为 *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken。供试试剂有卡波姆(大连美仑生物技术有限公司)、冰片(郑州烨阳化工产品有限公司)、薄荷脑(郑州广杰化工有限公司)、尼泊金乙酯(天津市福晨化学试剂厂)、95%乙醇(辽宁泉瑞试剂有限公司)。供试仪器主要有电热恒温水浴锅(DK-98-II A,天津市泰斯特仪器有限公司);循环水式多用真空泵(SHB-III,郑州长城科工贸有限公司);旋转蒸发仪(RE-3000B,上海雕荣生化设备仪器有限公司);台式高速离心机(TG16A-WS,上海卢湘仪离心机仪器有限公司);磁力恒温搅拌器(78HW-1,上海企戈实业有限公司)。

收稿日期:2018-05-14

基金项目:国家级大学生科技创新资助项目(201711439005)。

第一作者简介:刘遥燕(1995-),女,在读学士,从事药物制剂研究。E-mail: 365144737@qq.com。

通讯作者:常维毅(1966-),男,博士,教授,从事药学研究。E-mail: 1062319516@qq.com。

Study on Growth and Fruiting Conditions of Culture Spawn in Taishan *Grifola frondosa*

LIU Shan-shan, QIU Shan-shan, FENG Zhao-xia, ZHU Meng-juan

(College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: In order to popularize the cultivation of Taishan *Grifola frondosa*, taking Taishan *Grifola frondosa* as experimental material, the growth and fruiting conditions including medium formula, the temperature of mycelium growth, casing soil or not, the temperature and humidity of fruiting for the culture spawn of Taishan *Grifola frondosa* were studied by single factor experiment. The results showed that the optimum medium for cultivation of Taishan *Grifola frondosa* was 45% chestnut sawdust, 33% cottonseed shell, 20% wheat bran, 1% gypsum and 1% sugar; the optimum germination temperature was 24-28 °C, the optimum temperature for mushroom emergence was 20-24 °C and the relative humidity was 90%.

Keywords: Taishan *Grifola frondosa*; medium formula; fruiting conditions

1.2 方法

1.2.1 落地生根中有效成分的提取 取落地生根鲜叶 80.0 g,蒸馏水清洗两次除去叶面杂质,再用少许 95%乙醇冲洗 1 次,将鲜叶切块放置于圆底烧瓶中,加入 95%乙醇 200 mL 浸泡 1 h,回流提取 2 h,将第一次回流提取液过滤,剩余残渣再用 200 mL 95%乙醇回流提取 1.5 h,过滤滤液,将两次滤液合并,于旋转蒸发仪中浓缩,过滤,定容至 200 mL,低温保存,备用^[7]。

1.2.2 落地生根乳的制备工艺 取落地生根乙醇提取液,加入薄荷脑在 40~50 ℃内搅拌溶解,冷却,加入冰片,常温搅拌溶解后加入尼泊金乙酯搅拌溶解,过滤,除去残渣;将卡波姆放入研钵中,缓慢加入 1/4 倍提取液的蒸馏水研磨,待充分分散后放置在磁力加热搅拌器中,温度控制在 20 ℃左右,缓慢加入制备好的提取液进行乳化,搅拌 30 min;待搅拌充分稳定冷却后,放置于瓶中,即得^[8-10]。

1.2.3 正交试验设计 根据单因素筛选的结果,以乳剂制备的辅料冰片(A)、薄荷脑(B)、尼泊金乙酯(C)、卡波姆(D)的用量为因素,设置不同水平,采用正交试验设计 L₉(3⁴)表对工艺进行相应的优化,以均匀性、黏度、涂展性的综合评价为指标,对各成分的用量进行筛选(表 1)。

1.2.4 质量初步检查 外观性状:取 3 瓶落地生根乳剂至于光线良好处,观察是否分散均匀,有无发霉或酸败,涂展性及油腻性程度。

表 1 正交试验因素和水平

水平 Level	因素 Factor			
	A 冰片/g	B 薄荷脑/g	C 尼泊金乙酯/g	D 卡波姆/g
	Borneol	Menthol	Ethylparaben	Carbomer
1	6.5	6.7	1.0	4.8
2	7.0	7.2	1.2	5.0
3	7.5	7.7	1.4	5.2

pH 检测:取适量落地生根乳剂,在不断搅拌下,用酸度计进行 pH 测定。

1.2.5 皮肤刺激性检验 取洁净级昆明种小白鼠 15 只,每只动物分笼饲养,随机分为 3 组,每组各 5 只,每只小白鼠均处理 1 cm×1 cm 脱毛区,第一组:单次给药,使药物与皮肤作用 5 h,然后用温水冲洗干净药物,于冲洗干净后的 1、6、12 和 24 h 观察乳剂对小鼠皮肤的刺激性。第二组:多

次给药,连续给药 3 d,每天 1 次,最后一次给药 24 h 后,用温水冲洗干净用药部位,于冲洗干净后的 1、6、12 和 24 h,分别观察乳剂对小鼠皮肤的刺激性。第三组:空白对照组,生理盐水给药,间隔相同时间观察乳剂对小鼠皮肤的刺激性^[11-13]。

1.2.6 数据分析 试验数据采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果

由表 2 可知,各因素对制剂质量影响程度为 D>A>B>C,将各因素对制剂质量的影响进行效应分析和方差分析可知,冰片、薄荷脑以及卡波姆对试验结果有显著影响,而尼泊金乙酯对试验影响不大。最终确定最佳处方为 A₂B₂C₁D₁,即冰片 7.0 g,薄荷 7.2 g,尼泊金乙酯 1.0 g,卡波姆 4.8 g。并进一步进行验证试验。

表 2 正交试验结果

序号 No.	因素 Factor				综合评价 Comprehensive evaluation
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	19
2	1	2	2	2	18
3	1	3	3	3	21
4	2	1	2	3	23
5	2	2	3	1	25
6	2	3	1	2	20
7	3	1	3	2	16
8	3	2	1	3	23
9	3	3	2	1	22
I _j	19.333	19.333	20.667	22.000	
II _j	22.667	22.000	21.000	18.000	
III _j	20.333	21.000	20.667	22.333	
R _j	3.334	2.667	0.333	4.333	
F	79.081	49.050	1.000	157.158	
Sig.	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	

2.2 验证试验结果

验证试验结果表明,通过最佳制备工艺处方 A₂B₂C₁D₁得到乳剂,在离心试验、光照试验和高温试验下考察 3 批样品的稳定性和可行性,总得分均合格,符合要求(表 3)。

2.3 质量检查结果

外观性状:落地生根乳剂分散均匀,无发霉或

酸败,具有较好的涂展性且不具有油腻性。

表 3 验证试验结果

Table 3 Verification test result				
样品号	离心试验 (10 分)	光照试验 (10 分)	高温试验 (10 分)	总分
No.	Centrifuge test	Illumination test	High temperature test	Aggregate score
1	9	9	9	27
2	10	9	10	29
3	9	9	10	28

pH 检测:测得落地生根乳剂 pH 为 5.17~5.77,根据《中国药典》2015 版规定,乳剂 pH 在 4.0~6.5 即为合格,所以产品合格。

2.4 皮肤刺激性检验

小白鼠皮肤的刺激性试验结果表明,在肉眼观察下用温水洗去残留药物后空白对照组与单次给药组和多次给药组小鼠给药部位都无红斑及水肿现象,说明落地生根乳剂对小鼠皮肤未产生刺激性。

3 结论

试验中所用辅料冰片是易挥发的物质,而薄荷脑的溶解温度在 30~40℃,因此冰片应该在薄荷脑之后加入。乳剂的制作过程较困难,乳化剂用量的多少、搅拌速度、温度的控制等会产生相应的影响,所以辅料的量要筛选得当,控制好温度和最后乳化时的温度,得到想要的产品。本试验最终确定落地生根乳剂最佳处方为 A₂B₂C₁D₁,即冰片 7.0 g,薄荷 7.2 g,尼泊金乙酯 1.0 g,卡波姆 4.8 g。并经离心试验、光照试验和高温试验验

证,总得分均合格,外观及 pH 检测均符合要求。小白鼠皮肤的刺激性试验结果显示对小鼠皮肤未产生刺激性。落地生根制备成乳剂,为开发治疗跌打损伤的兽药提供药用基础,有利于落地生根资源的开发和利用。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典(下卷)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977.

[2] 叶艳影,杨友剑,夏明钰,等. 落地生根的化学成分研究[J]. 中草药,2013,44(19):2642-2646.

[3] 刘德胜,韩景田,吕志华,等. 落地生根黄酮类成分分析及抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(32):19747-19750.

[4] 武晓丹,王艳萍,田凤,等. 落地生根软膏抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报,2014,30(4):90-93.

[5] 徐庆荣,胡营滨. 中药 4 落地生根对小鼠血液系统及免疫功能的调节作用[J]. 中国临床康复,2006(15):138-140.

[6] 落地生根的某些药理作用[J]. 国外医药(植物药分册),1990(5):231-232.

[7] 孙辉,赵成爱,周正辉. 落地生根叶乙醇提取物的抑真菌作用[J]. 农药,2010,49(12):915-916,926.

[8] 张莹莹,薛东江. 白藜芦醇乳剂的制备[J]. 山东化工,2016,45(12):20-21,24.

[9] 潘明明,季辉,江善祥. 地昔尼尔乳剂的制备及其 HPLC 测定方法的建立[J]. 中国兽医科学,2015,45(5):532-538.

[10] 何琳,黄淑玲,方壬德,等. 祛痘乳剂的制备工艺研究及质量评价[J]. 中南药学,2013,11(6):417-420.

[11] 王瑶,杨春艳,胡祥宇,等. 五倍子乳膏皮肤局部用药的安全性研究[J]. 西南军医,2017,19(6):528-532.

[12] 李媛,段亚平,钱海兵. 祛瘀散皮肤刺激性试验研究[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(80):87.

[13] 张倩,熊亚敏,王荣帅,等. 七白散软膏皮肤毒性的动物实验研究[J]. 世界中医药,2017,12(7):1623-1626.

Preparation of *Bryophyllum pinnatum* Emulsion

LIU Yao-yan,ZHANG Miao,ZHANG Ying,CHANG Wei-yi

(College of Pharmaceutical Engineering,Jilin Agricultural Science and Technology College,Jilin 132101,China)

Abstract: In order to develop pharmaceutical methods of *Bryophyllum pinnatum*, the preparation of emulsion was screened out by orthogonal experiment taking fresh leaves from *Bryophyllum pinnatum* as the main materials. Emulsion were prepared by emulsification in water, and the uniformity, viscosity and spreading property were used as evaluation indexes to determine the optimal prescription and preparation process. The results showed that the optimal prescription was as follows: 80.0 g *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken, 1.0 g ethylparaben, 7.0 g borneol, 7.2 g menthol, 4.8 g carbomer, 800 mL 95% ethanol, and 4 000 mL distilled water. The emulsion displayed the properties of dispersive and uniform, process stability and good spreading. The skin irritation test also showed safety in mice.

Keywords: *Bryophyllum pinnatum*; emulsion; preparation process