

山茱萸纳米软胶囊的制备及含量测定

张乐, 李兴华*, 马小亚, 雷建林

(西安交通大学医学院第二附属医院药剂科, 西安 710004)

[摘要] 目的: 制备山茱萸纳米软胶囊并建立含量测定方法。方法: 采用薄膜-超声法制备山茱萸纳米混悬液, 高效液相色谱法测定其脂溶性成分熊果酸、水溶性成分马钱苷的含量。结果: 熊果酸进样量在 1.132 ~ 5.660 μg 有良好线性关系 ($r = 0.9997$), 平均回收率 98.90%, RSD 1.85%; 马钱苷进样量在 0.176 ~ 0.880 μg 有良好线性关系 ($r = 0.9997$), 平均回收率 99.12%, RSD 1.26%。结论: 该方法操作简便、灵敏度高、结果准确, 可作为山茱萸纳米软胶囊的质量控制方法。

[关键词] 山茱萸纳米软胶囊; 熊果酸; 马钱苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6, R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0030-03

Preparation and Content Determination of Corni Fructus Soft Nanocapsule

ZHANG Le, LI Xing-hua*, MA Xiao-ya, LEI Jian-lin

(Department of Pharmacy, Second Affiliated Hospital of Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

[Abstract] **Objective:** Prepared corni fructus soft nanocapsule and determine the content. **Method:** Prepared corni fructus nanosuspension by film-ultrasonic wave dissolving techniques. Determined ursolic acid of liposoluble components and loganin of water-soluble components by HPLC. **Result:** The linear range of ursolic acid was 1.132-5.660 μg ($r = 0.9997$). The average recovery was 98.90% with RSD 1.85%. The linear range of loganin was 0.176-0.880 μg ($r = 0.9997$). The average recovery was 99.12% with RSD 1.26%. **Conclusion:** This method is simple, sensitive and accurate; Which can be used for quality control of corni fructus soft nanocapsule.

[Key words] corni fructus soft nanocapsule; ursolic acid; loganin; HPLC

山茱萸为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 味酸、涩, 微温, 归肝、肾经^[1], 其功效为补益肝肾、涩精固脱^[2]。山茱萸果肉中含有多种化学成分, 其中糖类、有机酸、环烯醚萜类及鞣质类为其水溶性成分, 脂类、蛋白质、氨基酸等为其脂溶性成分^[3]。本实验采用薄膜-超声法^[4]制备山茱萸纳米混悬液^[5], 可很好保留脂溶性与水溶性成分, 从而最大程度地保留药效物质; 通

过 HPLC 测定脂溶性主要成分熊果酸与水溶性成分马钱苷, 建立质量控制方法。

1 仪器与试剂

Waters 510 型高效液相色谱仪 (Waters 510 HPLC 泵, 486 检测器, N2000 色谱数据工作站), UV-2550 型紫外-可见分光光度仪 (日本岛津), TG-332A 型微量天平 (湘仪天平仪器厂), AEG-220G 型电子天平 (日本岛津), PSS. NICOMP TM 380 型粒度测定仪 (美国 PSS 粒度分析仪器公司)。

山茱萸购自陕西省药材市场, 经西安交通大学医学院第二附属医院王晴辉主管药师鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *C. officinalis* 的干燥成熟果肉; 熊果酸对照品、马钱苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110742-200516, 111640-200604), 甲醇、

[收稿日期] 20110613(006)

[第一作者] 张乐, 硕士研究生, 从事中药新剂型研究, Tel: 15229237363, E-mail: zhle1021@126.com

[通讯作者] * 李兴华, 本科, 副主任药师, 从事临床药理研究, Tel: 029-87679398, E-mail: lixinghua0606@sina.com

乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 山茱萸纳米软胶囊的制备 称取山茱萸 500 g,用水提取山茱萸,分别加水 4 000,2 500 mL 提取 2,1 h,合并提取液,浓缩至 450 mL,备用;取山茱萸残渣,烘干,加入 8 倍量乙醇回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,浓缩至 280 mL。

量取水提液 45 mL,加水稀释至 90 mL,加泊洛沙姆 1 g,备用。取乙醇提取液 28 mL,水浴 50 °C 挥发至一层薄膜,将备用水提液倒入,超声 20 min 既得山茱萸纳米混悬液,压注于胶囊中即得,对其粒径考察,得其粒径分布为(289.2 ± 87.5) nm。

2.2 熊果酸 HPLC 法检测

2.2.1 色谱条件 流动相乙腈-甲醇-水-醋酸铵(70:14:16:0.05),Aglient TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),检测波长 210 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温为室温。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取熊果酸对照品 2.83 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密吸取山茱萸纳米混悬液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,4 °C 静置过夜,离心(3 000 r·min⁻¹,10 min),取上清液,0.45 μm 微孔滤膜过滤即得。

2.2.4 线性关系考察 取 4,8,12,16,20 μL 熊果酸对照品溶液分别进样,以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程为 $Y = 651\ 868X + 81\ 358$ ($r = 0.999\ 7$)。结果表明熊果酸在进样量 1.132 ~ 5.660 μg 线性关系良好。

2.2.5 精密密度试验 精密吸取熊果酸对照品溶液 10 μL 进样,重复 6 次,分别测定其峰面积值,RSD 1.58%。

2.2.6 稳定性试验 取适量供试品溶液于 0,2,4,6,12,24 h 测定,RSD 3.1%。表明供试品溶液在 0 ~ 24 h 内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 称取同一批山茱萸样品 6 份,制备供试品溶液,按外标法分别测定含量,RSD 2.63%,表明方法的重复性良好。

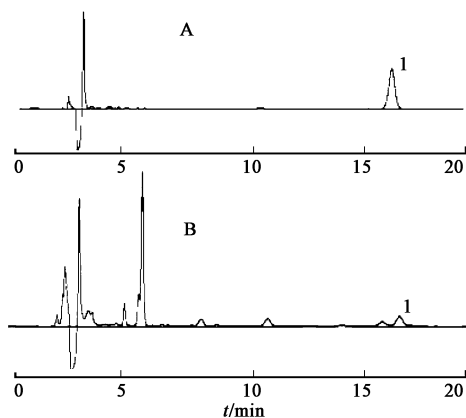
2.2.8 加样回收率试验 精密取同一批号的已知浓度的样品 6 份,分别加入一定质量浓度的熊果酸对照品溶液,提取并按含量测定方法测定,结果平均

回收率为 98.90%,RSD 1.85%,结果见表 1。

表 1 熊果酸加样回收率试验

No.	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%
1	4.235	1.68	5.890	98.53
2	4.239	1.68	5.907	99.27
3	4.237	2.10	6.386	102.31
4	4.227	2.10	6.282	97.86
5	4.231	2.52	6.711	98.42
6	4.225	2.52	6.670	97.03

2.3 样品中熊果酸含量测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪中,测定峰面积,按外标法计算含量,结果山茱萸中熊果酸质量分数 0.469%,见图 1。



A. 对照品;B. 样品;1. 熊果酸

图 1 山茱萸纳米软胶囊中熊果酸 HPLC

2.4 马钱苷 HPLC 检测

2.4.1 色谱条件 Aglient TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(15:85),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 240 nm,柱温为室温。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取马钱苷对照品 0.44 mg,置于 10 mL 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密吸取山茱萸纳米混悬液 0.5 mL 溶液至 10 mL 量瓶中,用水定容,经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液,即得供试品溶液。

2.4.4 线性关系考察 分别精密吸取马钱苷对照品溶液 4,8,12,16,20 μL,按上述色谱条件进样测定,以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程为 $Y = 1.0 \times 10^6 X + 5.3 \times 10^4$ ($r = 0.999\ 7$),在 0.176 ~ 0.880 μg 线性关系

良好。

2.4.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液(44 mg·L⁻¹) 20 μL,重复进样 6 次,RSD 2.42%。

2.4.6 稳定性试验 按 2.3 项下方法制备供试品溶液,分别于制备后 0,2,4,6,8,10,12 h 进样 20 μL,测定熊果酸色谱峰峰面积,得 RSD 2.68%,表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

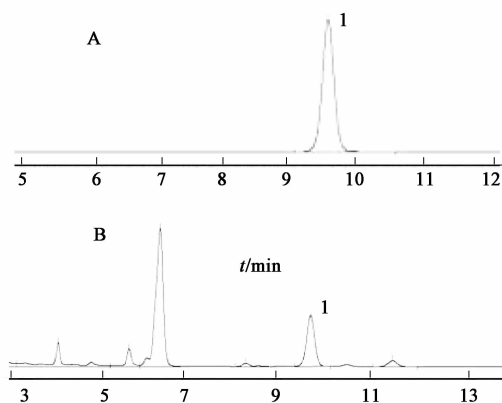
2.4.7 重复性试验 称取同一批山茱萸样品 6 份,制备供试品溶液,分别取 20 μL 进样测定,按外标法测定马钱苷含量,得 RSD 3.22%,表明该方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份,加入马钱苷对照品溶液,按供试品溶液的制备及样品测定项下操作,平均回收率为 99.12%,RSD 1.26%,结果见表 2。

表 2 马钱苷加样回收率试验

No.	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%
1	1.214	0.800	2.000	98.22
2	1.225	0.800	2.007	97.70
3	1.218	1.000	2.213	99.53
4	1.220	1.000	2.207	98.69
5	1.216	1.200	2.431	101.27
6	1.219	1.200	2.411	99.32

2.5 样品中马钱苷含量测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪中,测定峰面积。按外标法计算含量,结果山茱萸中马钱苷的含量为 1.22 mg·g⁻¹。含量测定见图 2。



a. 对照品;b. 样品;1. 马钱苷

图 2 山茱萸纳米软胶囊中马钱苷 HPLC

3 讨论

在确定检测波长时,通过对一定量的熊果酸对照品进行紫外检测,得其最大吸收波长为 206 nm,由于在此范围内会有溶剂峰的干扰,故选择 210 nm 作为检测波长。山茱萸中齐墩果酸和熊果酸的性质相似,二者常并存,不易分离。试验采用乙腈-甲醇-水-醋酸铵作为流动相,可使齐墩果酸和熊果酸基本达到基线分离^[6]。其中加入少量的醋酸铵形成弱酸性环境,可以很好的改善峰型,有利于齐墩果酸与熊果酸的分离^[7]。

把山茱萸做成脂质体纳米粒不仅可以大大的提高药物在体内的吸收,还可将有效成分定位输送到靶部位,有效减少胃肠道酶系对药物的影响;混悬剂又可以很好的将水溶性成分与脂溶性成分都很好的保留,从而使药物的疗效得到最大的发挥,为单味中药制剂的开发应用提供了依据。

[参考文献]

[1] 张聪,金德庄. 山茱萸的研究进展[J]. 医药综述, 2008,29(10):464.

[2] 曹岗,蔡皓,张云,等. 中药山茱萸药理功能研究进展及开发思路[J]. 泰州职业技术学院学报,2009,9(6):30.

[3] 戴建子,张志豪,唐蕾,等. 山茱萸化学成分及药理作用研究进展[J]. 综述报告,2006,15(2):74.

[4] 陈健,张灵芝,谢彦瑰. 杨梅苷脂质体的薄膜超声法制备工艺研究[J]. 中国食品添加剂,2009,4(5):201.

[5] 孙晓革. 纳米混悬剂及其制剂研究进展[J]. 中国药业,2010,19(13):84.

[6] 韦建华,李耀华,蔡少芳,等. HPLC 测定柿子中齐墩果酸与熊果酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):48.

[7] 吴英俊,韩冬梅,武艳,等. 高效液相色谱法同时检测蛇莓饮片齐墩果酸与熊果酸的含量[J]. 医药导报,2010,29(8):1069.

[责任编辑 全燕]