

也相近,为了充分提取和富集药材中的有效成分,又能从实际考虑、节约成本,现将处方中这两味药进行合提,并对合提工艺进行优化和验证,结果表明合并后工艺稳定、可行。

参考文献:

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [2] 杨 桦,邓晓静,易 红. 大孔吸附树脂用于川草乌中总生物碱的分离提取 [J]. 中成药,2000,22(8):535-538.
- [3] 刘志敏,牛 欣,李海燕. 蒙药那如-3 巴布剂中新乌头碱的透

皮速率测定 [J]. 中华中医药杂志,2005,20(6):381-382.

- [4] 刘晓华,孙文基,李 涛. HPLC 法测定独活中蛇床子素的含量 [J]. 药物分析杂志,2004,24(2):212-213.
- [5] 作文英,刘 硕,张抗怀,等. 酸性染料比色法测定苦参碱脂质体中苦参碱的含量 [J]. 中国药房,2005,16(22):1734-1735.
- [6] 上官一平,傅静芝. 酸性染料比色法测定川贝母中贝母素甲含量 [J]. 中南药学,2006,4(2):34-35.
- [7] 李云霞,孙 照,郭艳玲. 酸性染料比色法测定川乌、草乌中总乌头生物碱的含量 [J]. 中成药,2000,21(9):662-663.

穿心莲内酯微乳的制备及含量测定

刘 意, 龙晓英*, 何 琳, 曾桂先, 林 雁, 李 婷, 胡宗科
(广东药学院,广东 广州 510006)

关键词:穿心莲内酯;微乳;HPLC;含量测定

摘要:目的:制备穿心莲内酯微乳并建立其含量的测定方法。方法:采用正交设计法及伪三元相图结果制备穿心莲内酯微乳,含量测定采用 HPLC 法,以 C_{18} 柱为色谱柱,以甲醇-水(55:45)为流动相,穿心莲内酯检测波长为 225 nm。结果:穿心莲内酯微乳粒径为 160 nm,穿心莲内酯在 10.46~83.68 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好($r=0.9997$),平均回收率为 99.6%,RSD 为 1.6%。结论:穿心莲内酯微乳处方组成和制备工艺简单,HPLC 测定穿心莲内酯微乳方法简便,可用于穿心莲内酯微乳的含量测定。

中图分类号:R944

文献标识码:B

文章编号:1001-4528(2010)08-1424-03

穿心莲内酯为爵床科植物穿心莲的主要有效成分,具有祛热解毒,消炎止痛之功效,对细菌性与病毒性上呼吸道感染及痢疾有特殊疗效。穿心莲内酯化学结构为二萜类内酯化合物,难溶于水,通常仅能口服给药。若制成微乳制剂可提高溶解度,促进药物在体内的吸收,目前尚未见穿心莲内酯微乳制备的相关文献。本研究以正交设计法结合伪三元相图结果优化处方,并建立 HPLC 法测定穿心莲内酯微乳含量,根据药物与空白微乳的溶解特性,采用甲醇为破乳溶剂,直接以流动相稀释进样,方法简便。

1 仪器与试剂、试药

大连依利特 P230 型液相色谱仪,P230+型紫外检测器,色谱工作站,激光散射粒度分析仪(Mastersizer 2000,英国 Malvern 公司)。

穿心莲内酯对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110797-200307);空白微乳(自制,批号 20080722);穿心莲内酯微乳(自制,规格 40 mg/0.5 g,批号 20080722,20080723,20080724)。

单亚油酸甘油酯,椰子油甘油酯,GTCC,Cremophor-RH40(德国 BASF),Transcutor P,吐温-20、OP-10、PEG400

进口分装。

2 方法与结果

2.1 处方研究

按表 1 选择不同的油相(A)、乳化剂(B)及助乳化剂(C),比例分别为(1:1:1),按正交试验表进行试验,试验设计及观察指标见表 2。观察指标的选择中,根据参考文献^[1]设计评价考察指标,分别以药物及其油、乳化剂、助乳化剂在体系中的互溶状况、乳化速度、乳化程度(透光率)、乳化后液面是否有漂浮油层、静置超过 24 h 后是否有药物析出及程度作为五个评价指标。将五个指标进行综合评分,分数越高微乳质量越好,满分为 100 分。药物与油、乳化剂、助乳化剂的互溶状态占 25 分完全互溶 25 分,分层 10 分;透光率占 30 分:透光率 100%~95%,30~28 分;94%~80%,27~25 分;79%~50%,25~20 分,其余酌情打分。乳化速度占 15 分:透光率达平衡的时间 <1 min,15 分;1~2 min,12 分;2~3 min,8 分,其余 5 分。乳化结束后液面出现漂浮油层占 15 分:没有油层 15 分,有油层-10 分。静置 >24 h 后稳定情况占 15 分:没有油水分层和药物沉淀 15 分,有分层或药物沉淀-10 分。表 2 结果看出,8 号处方总分最高,其

收稿日期:2009-12-16

作者简介:刘 意(1973-),男,博士生,讲师,主要从事高分子化学领域微乳液聚合研究。Tel:13533243599 E-mail:liuyi915@126.com

* 通讯作者:龙晓英(1960-),女,博士,教授,硕士生导师,主要从事药物新剂型与新技术研究。Tel:020-39352559 E-mail:longxy3156@

组成为单亚油酸甘油酯、吐温 - 20 与 Transcutor P。极差结果表明,3 种因素中油相的影响最大,助乳化剂次之,乳化剂最小。最佳的微乳组成为 $A_3B_1(B_2)C_1$,即油相为单亚油酸甘油酯,助乳化剂为 Transcutor P,而乳化剂则有两种选择: Cremophor-RH40 和 吐温 - 20。 $A_3B_2C_1$ 为 试 验 号 8,而 $A_3B_1C_1$ 不在 9 个正交试验中,遂进行试验验证。其总分为 98.5,与试验号 8 相接近,而且吐温 - 20 原料方便易购,故选择 $A_3B_2C_1$ 进行以下实验。

表 2 穿心莲微乳正交表试验设计及试验结果

试验号	因 素			乳化程度	溶解分层状态	乳化速度	液面油层	放置 24 h 后 药物情况	总分
	油相	乳化剂	助乳化剂						
1	A1	B1	C1	26.55	25	12	15	15	93.55
2	A1	B2	C2	0.30	20	5	-10	-10	5.3
3	A1	B3	C3	2.58	25	5	-10	-10	12.58
4	A2	B1	C2	7.20	20	5	10	-10	32.2
5	A2	B2	C3	6.60	25	5	10	10	56.6
6	A2	B3	C1	7.50	25	5	10	-10	37.5
7	A3	B1	C3	28.02	25	15	15	15	98.02
8	A3	B2	C1	28.29	25	15	15	15	98.29
9	A3	B3	C2	26.64	20	15	15	-10	66.64
	37.14	74.59	76.45						
	42.10	53.38	34.71						
	87.65	38.91	47.69						
R	50.51	35.68	41.73						

2.2 伪三元相图法确定微乳处方

根据正交设计的结果,以油相(单亚油酸甘油酯)、乳化剂(吐温 20)和助乳化剂(Transcutor P)各为一相,各成分选择不同的比例(其中乳化剂:助乳化剂的比例分别为 $K_m = 1:9 \sim 9:1$)充分混合,加入穿心莲内酯(40 mg/0.5 g),超声溶解,静置 24 h。将形成均一、透明不分层的处方,在 37℃、120 r/min 搅拌下滴加到 100 mL 蒸馏水中,观察是否形成澄清透明溶液,在相图中标出可以形成微乳的区域。如图 1 阴影部分都可形成微乳,选择乳化剂用量较低得为最佳处方,其组成为:穿心莲内酯(药物)、单亚油酸甘油酯、吐温 20、Transcutor P 质量比为 0.4:3:0.8:0.2,单剂量总重量为 0.50 g。

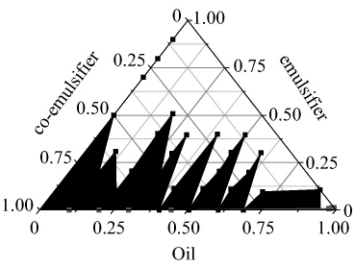


图 1 伪三元相图

2.3 微乳的制备

根据正交设计及伪三元相图筛选出的处方制备微乳,以 药物-油-乳化剂-助乳化剂 = 0.4:3:0.8:0.2(质量比)称取,搅拌混匀超声溶解,静置 24 h,即可得到穿心莲内酯微乳,同法制得不含穿心莲内酯药物的空白微乳。

表 1 因素水平表

水平	因 素		
	油相 A	乳化剂 B	助乳化剂 C
1	A1 (GTCC)	B1 (Cremophor-RH40)	C1 (Transcutor P)
2	A2 (椰子油甘油酯)	B2 (吐温 - 20)	C2 (PEG400)
3	A3 (单亚油酸甘油酯)	B3 (OP - 10)	C3 (乙氧基二乙二醇)

2.4 粒度测定

将最佳处方按照“2.3”项下操作,乳化完全后采用激光粒度仪测定粒径,其粒径分布图见图 2。平均粒径 160 nm,粒度分布范围窄,粒径均匀。

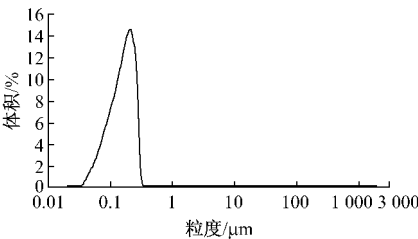


图 2 穿心莲内酯微乳粒径分布图

2.5 微乳的含量测定

2.5.1 溶液的制备 对照品溶液:精密称取穿心莲内酯对照品 10.46 mg,加甲醇溶解定容,制得的对照品贮备液 104.6 μg/mL。

供试品溶液:将穿心莲内酯微乳用甲醇溶解至 100 mL 量瓶中,超声破乳,再用甲醇定容。精密移取上述溶液 1 mL 至 10 mL 量瓶中,加流动相定容。

空白溶液:将不含穿心莲内酯的空白微乳用甲醇溶解至 10 mL 量瓶中,超声破乳,再用甲醇定容。精密量取上述溶液 1 mL 至 10 mL 量瓶中,加流动相定容。

2.5.2 色谱条件^[1] 色谱柱 C_{18} 柱(4.6 mm×50 mm);流动相:甲醇-水(55:45);检测波长为 225 nm;柱温为室温;流速为 1.0 mL/min。

2.5.3 线性试验 精密移取对照品贮备液 1,2,3,4,5,6,8

mL 至 10 mL 量瓶中,用流动相稀释,定容,摇匀制得的一系列标准溶液,进样,记录色谱峰面积。穿心莲内酯在 10.46 ~ 83.68 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,以峰面积(A)对进样量(C)进行回归,得回归方程 $A = 42.692C - 180.28$, $r = 0.9997$ 。

2.5.4 专属性试验 分别取穿心莲内酯微乳及空白微乳,照“2.5.6”项下方法操作后进样测定,考察辅料对穿心莲内酯含量测定的干扰。结果表明空白微乳对测定无干扰(图 3A、B、C)。

2.5.5 精密度、重复性和稳定性试验 取 41.84 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,按上述色谱条件测定,连续进样 5 次,记录穿心莲内酯的峰面积,计算得 RSD 为 2.0%。取同一批穿心莲内酯微乳(批号 20080722),按上述供试品溶液制备方法制备 6 份溶液,在上述色谱条件下测定穿心莲内酯含量,计算得穿心莲内酯含量 RSD 为 1.4%。取同一批穿心莲内酯微乳(批号 20080722)分别在 0、2、4、6、8 和 12 h 进样,测定穿心莲内酯含量,计算得穿心莲内酯含量 RSD 为 2.4%。

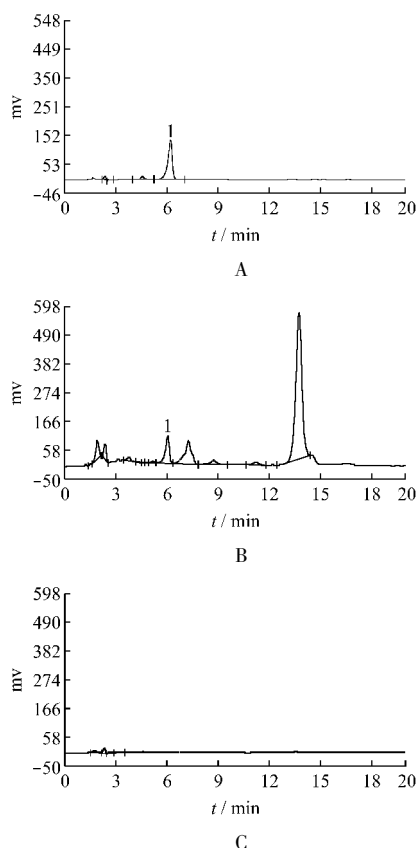


图 3 穿心莲内酯对照品、穿心莲内酯微乳、空白微乳 HPLC 色谱图

A. 穿心莲内酯对照品 B. 穿心莲内酯微乳 C. 空白微乳
1. 穿心莲内酯

2.5.6 回收率试验 分别精密移取穿心莲对照品贮备液 2, 4, 6 mL, 至 10 mL 量瓶中,加入处方量的空白微乳,在上述色谱条件下,进行含量测定,平均回收率为 99.6%, RSD 为 1.6% ($n=9$) 结果见表 3。

表 3 样品回收率

编号	加入量 $/(\mu\text{g/mL})$	测得量 $/(\mu\text{g/mL})$	回收率 $/\%$	平均回收 率 $/\%$	RSD $/\%$
1	20.92	21.23	101.4	99.6	1.6
2	20.92	21.27	101.7		
3	20.92	21.20	101.3		
4	41.84	41.63	99.5		
5	41.84	41.38	98.9		
6	41.84	41.19	98.4		
7	62.76	60.96	97.1		
8	62.76	61.58	98.1		
9	62.76	62.60	99.4		

2.5.7 样品的测定 按上述色谱条件对 3 批样品进行含量测定($n=3$),结果见表 4。

表 4 穿心莲微乳含量测定结果

批号	穿心莲内酯含量 $/(\text{mg/g})$	RSD $/\%$
20080722	84.0	1.4
20080723	85.0	1.8
20080724	85.0	1.4

3 讨论

本实验研制自微乳给药系统,目的在于增加穿心莲内酯的溶解度,从而提高药物的生物利用度。以正交设计来筛选油相,乳化剂,助乳化剂方法简便快速。从伪三元相图可看到,可形成微乳区有 9 个,其中选择乳化剂用量较低得为最佳处方,其组成穿心莲内酯、单亚油酸甘油酯、吐温 20、Transcutol P 质量比为 0.4 : 3 : 0.8 : 0.2,单剂量总重量为 0.50 g。

本实验采用高效液相色谱法测定穿心莲内酯,回收率符合分析方法要求,用其作为穿心莲内酯自微乳制剂定量控制是可行的。

参考文献:

- [1] 丁沐淦,龙晓英,林丹荣. 莪术油自微乳化给药系统处方设计和体外评价 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(6): 610-614.
- [2] 张 艺,孟宪丽,赖光荣,等. RP-HPLC 测定穿心莲片中穿心莲内酯含量 [J]. 中草药, 1995, 26(4): 191-192.