

引用 陈玲珑,田其学,李跃辉.白芷纳米乳鼻喷雾剂质量控制方法的研究[J].中医药导报,2019,25(18):47-49.

白芷纳米乳鼻喷雾剂质量控制方法的研究*

陈玲珑¹,田其学¹,李跃辉²

(1.湖南省中医药研究院附属医院/湖南中医药大学附属中西医结合医院,湖南长沙 410006;
2.湖南省中医药研究院,湖南长沙 410006)

[摘要] 目的:建立白芷纳米乳鼻喷雾剂鉴别、含量测定及粒径检测方法。方法:采用TLC法对白芷进行定性鉴别,采用HPLC法测定白芷纳米乳鼻喷雾剂中欧前胡素的含量,并进行方法学考察,测定该制剂粒径范围。结果:供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的荧光斑点,分离度良好,阴性无干扰,欧前胡素含量测定在2.6~20.8 μg/mL范围内线性关系良好($r^2=0.999,6$),加样回收率为97.84%, $RSD\%=1.81\%$,粒径符合纳米乳要求。结论:鉴别方法简便可行,含量测定回收率和精密度均符合要求,粒径检测方法稳定,可作为白芷纳米乳鼻喷雾剂的质量控制方法。

[关键词] 白芷纳米乳;质量标准;液相色谱法

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2019)18-0047-03

DOI:10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2019.18.012

Study on a Method for Quality Control of Baizhi Nanoscale Spray for Nose

CHEN Ling-long¹, TIAN Qi-xue¹, LI Yue-hui²

(1. The Hospital of Hu'nan Academy of Chinese Medicine/Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital Affiliated to Hu'nan University of Chinese Medicine, Changsha Hu'nan 410006, China;
2. Hu'nan Academy of Chinese Medicine, Changsha Hu'nan 410006, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for the identification, content determination and particle size detection of Baizhi nanoscale spray for nose. Methods: The method of TLC was used to identify Baizhi; HPLC was used to determine the content of imperatorin and investigated the HPLC methodology. It determined the size range of the preparation. Results: TLC detected the characteristic spots of Baizhi with good separation and no interference. The imperatorin had a good linear relationship in the range of 2.6 to 20.8 μg/mL ($r^2=0.999,6$). The sample recovery rate was 97.84%, $RSD\%=1.81\%$. The particle size meets the requirements of nanometer milk. Conclusion: The identification method was simple and feasible; The content determination recovery rate and precision met the requirements, and the particle size detection method was stable. It can be used as a quality control method for Baizhi nanoscale spray for nose.

[Keywords] Baizhi nanoscale spray; quality standards; liquid chromatography

慢性鼻炎一直是困扰人类的疾病之一,它严重影响着人们的生活质量,因此它的治疗一直是研究的热点^[1]。白芷具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓的功效,可用于治疗鼻塞、鼻渊、牙痛、感冒头痛、疮疡肿痛等^[2-3]。白芷的局部外用有打粉外敷、煎煮外洗及熏蒸,这些方法携带和操作均不方便^[4-5]。本项目在保持白芷传统中医药特色的基础上,采用纳米乳技术,将白芷研制成使用方便的白芷纳米乳鼻喷雾剂,延长药物在鼻黏膜滞留时间,提高局部药物浓度,有利于提高其生

物利用度。为了更好的控制成品质量,建立了鉴别、含量测定和纳米乳粒径测定方法。白芷主要含香豆素类成分,具有镇痛抗炎作用^[6],香豆素的代表成分欧前胡素为2015年版《中国药典》^[7]白芷药材质量控制指标成分,故TLC鉴别以香豆素类成分欧前胡素和异欧前胡素为对照品,含量测定以HPLC法测定欧前胡素的含量,并建立了白芷纳米乳鼻喷雾剂粒径测定方法。

1 仪器与试剂

1.1 试剂与试药 乙醇(天津市科密欧化学试剂有限公司),乙酸乙酯(天津市恒兴化学试剂有限公司),甲醇(成都市科

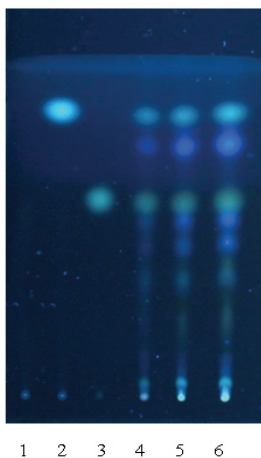
*基金项目:湖南省中医药管理局重点项目(201726)

通讯作者:李跃辉 E-mail:410256518@qq.com

隆化学有限公司),乙醚(天津市科密欧化学试剂有限公司),白芷纳米乳鼻喷雾剂(湖南省中医药研究院中药研究所),欧胡前素(110826-200511中检所),异欧胡前素(110827-201109中检所),水为重蒸馏水,甲醇(色谱级,美国天地有限公司)。
1.2 仪器 LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津),BT2600激光粒度分析仪(丹东百特仪器有限公司),AL204分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),101-2AB电热鼓风干燥箱(上海康路仪器有限公司),UV2450紫外吸收分光光度计(日本岛津公司),卡玛薄层扫描仪及薄层色谱数据摄像系统(瑞士卡玛公司)。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别^[7-8] 取白芷纳米乳1.0 g,加乙醚10 mL,浸泡1 h,振摇,用滤纸滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1 mL使其溶解,作为供试品溶液。精密称取欧胡前素对照品和异欧胡前素对照品,分别加乙酸乙酯制成1 mg/mL的溶液作为对照品溶液。另取缺白芷空白样品,同法制备缺白芷阴性样品溶液。照薄层色谱法(中国药典2015年版四部通则0502)试验,用毛细管吸取上述4种对照品溶液各4 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(30~60℃)-乙醚(3:2),在25℃以下展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。在色谱中供试品,在与欧胡前素和异欧胡前素对照品色谱相应的位置上,分别显相同颜色的荧光斑点。检出欧胡前素和异欧胡前素,符合规定。(见图1)



注:1.缺白芷阴性样品 2.异欧胡前素 3.欧胡前素 4.样品 5.样品 6.样品

图1 白芷纳米乳鼻喷雾剂的薄层鉴别图

2.2 高效液相色谱法测定欧胡前素的含量^[9-11] 色谱条件与系统适应性:选用十八烷基合硅胶为填充剂,流动相为甲醇-水(60:40),检测波长300 nm。理论塔板数按欧胡前素计算应不低于3000。

对照品溶液的制备:精密称定欧胡前素对照品适量,加甲醇溶解,制成10 μg/mL的溶液。

供试品溶液的制备:取白芷纳米乳鼻喷雾剂内容物约2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入甲醇50 mL,超声处理(功率300 W,频率50 kHz)60 min,取出,放冷,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加甲醇溶解,定容至10 mL,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

测定法:分别精密吸取对照品和供试品溶液各10 μL,依次注入液相色谱仪,测定,即得。

2.2.1 专属性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和缺白芷阴性样品液各10 μL,注入高效液相色谱仪,在此条件下,欧胡前素的出峰时间为16.1 min,阴性样品无干扰。(见图2~4)

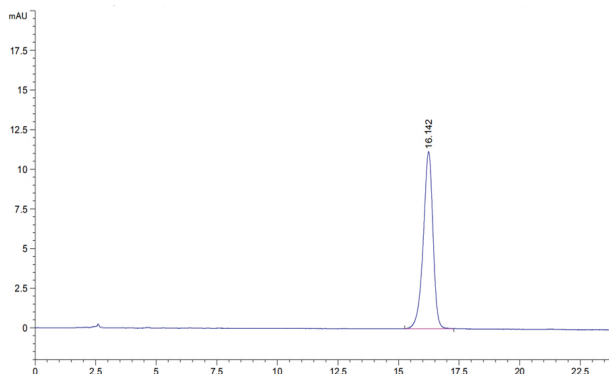


图2 对照品欧胡前素色谱图

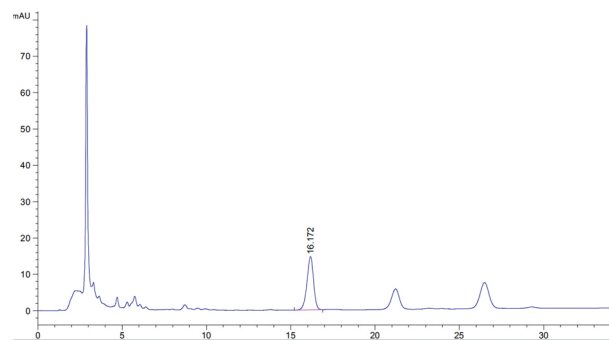


图3 白芷纳米乳鼻喷雾剂色谱图

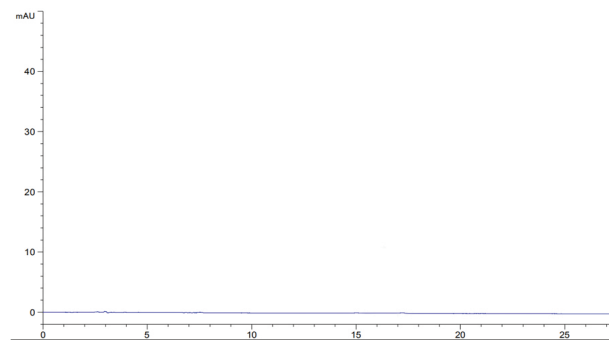


图4 阴性样品色谱图

2.2.2 线性范围的考察 采用等倍稀释方法,分别配制2.6、5.2、10.4、15.6、20.8 μg/mL的欧胡前素标准储备液,分别吸取10 μL注入高效液相色谱仪。以峰面积为纵坐标,各标准浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程 $A=30.5C-6.10$, $r^2=0.999,6$ 。结果表明欧胡前素在2.6~20.8 μg/mL范围内具有良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液10 μL,重复进样6次,分别测定峰面积值,计算峰面积的RSD%值,结果欧胡前素的峰面积值RSD%为1.09%,表明该方法精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 取白芷纳米乳鼻喷雾剂供试品溶液,分别于0、1、2、5、6、8、10小时各进样10 μL,测定其峰面积,结果欧胡前素的峰面积值RSD%为1.78%,表明10 h内稳定性较好。

表1 加样回收率试验结果

编号	取样量(g)	样品中欧前胡素量(μg)	添加欧前胡素量(μg)	实测欧前胡素量(μg)	加样回收率(%)	平均加样回收率(%)	RSD%
1	0.500,1	31.01	30	60.28	97.57		
2	0.498,6	30.91	30	61.22	101.03		
3	0.501,2	31.07	30	60.15	96.93	97.84	1.81
4	0.501,6	31.10	30	59.76	95.53		
5	0.500,4	31.02	30	60.38	97.87		
6	0.502,1	31.06	30	60.50	98.13		

2.2.5 重复性试验 取同一批号(20171201)样品,精密称取白芷纳米乳鼻喷雾剂内容物约1.0 g,共6份,按照供试品溶液的制备方法处理,测定其欧前胡素含量,平均含量为6.26 mg/100 g, RSD%为0.6%,表明重复性较好。

2.2.6 加样回收率试验 取已知含量的白芷纳米乳鼻喷雾剂内容物约0.5 g共6份,置量瓶中,精密加入欧前胡素对照品溶液适量,按前述方法制备样品溶液,测定实际含量,并计算回收率和RSD%值。由试验结果可知6份样品精密加入欧前胡素对照品后平均加样回收率为97.84%, RSD%=1.82%,说明欧前胡素的含量测定方法准确可行。(见表1)

2.3 白芷纳米乳鼻喷雾剂粒径的测定 取已制备成的白芷纳米乳鼻喷雾剂,采用BT2600激光粒度分析仪测定其粒径,结果粒径 D_{50} 为17.57 nm, D_{90} 为52.32 nm。(见图5)

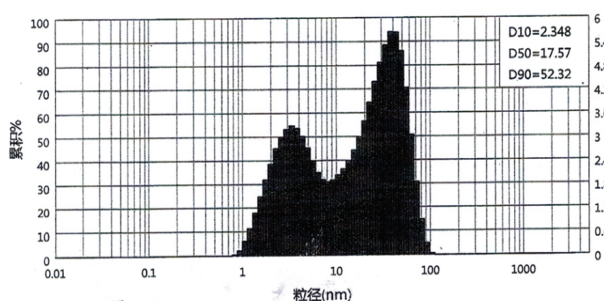


图5 白芷纳米乳鼻喷雾剂粒径分布

3 讨论

中药白芷主要成分为香豆素类、挥发油类等,其中欧前胡素、异欧前胡素等香豆素类成分为白芷镇痛的主要活性成分^[12-13]。故采用薄层色谱对白芷纳米乳鼻喷雾剂进行定性鉴别时,选用欧前胡素、异欧前胡素2种对照品,采用液相色谱法测定白芷纳米乳鼻喷雾剂中欧前胡素的含量。白芷纳米乳鼻喷雾剂为单味中药,但中药成分复杂,且纳米乳剂选用了成型辅料,样品处理及色谱条件的选择考虑分离效果的影响,薄层色谱和含量测定参照参考文献^[9-11]和《中国药典》2015年版白芷检测方法,根据实际情况适当调整。载药量也是纳米乳剂的一个重要指标,因药物制剂需要达到一定的浓度,药物才能发挥作用^[14]。欧前胡素含量检测结果显示,载药量有待提高,可以采用进一步纯化提取物和改进载药基质两种方法。

纳米乳制备方法简单、安全性较高,可以提高药物的溶解度和稳定性,增加生物利用度^[15]。本研究对研制的白芷纳米乳鼻喷雾剂建立了可靠的质量控制方法:白芷纳米乳鼻喷雾剂中白芷薄层色谱鉴别,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的荧光斑点,分离度良好,阴性无干

扰;欧前胡素药物含量测定方法,欧前胡素在2.6~20.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好($r^2=0.999,6$),加样回收率为97.84%, RSD%=1.82%。粒径检测方法稳定,粒径分布符合纳米乳剂要求。本方法简便、稳定可行,回收率和精密度均符合要求,可作为白芷纳米乳鼻喷雾剂的质量控制方法。

参考文献

- [1] 李源,李辉,朱天民,等.慢性鼻窦炎的临床治疗进展[J].时珍国医国药,2014,25(2):434-436.
- [2] 王云龙,杨立志,姜雪敏,等.HPLC测定白芷药材中欧前胡素与异欧前胡素的含量[J].中国医药导报,2011,8(18):74-75.
- [3] 杨先国,彭学著,符逢春,等.湖南茶陵白芷种植现状调查概况[J].中医药导报,2016,22(20):29-31.
- [4] 纪少丰,陈铃,林永城.中药熏蒸的研究进展[J].中国医药指南,2013,22(11):444-445.
- [5] 郭小红,冷静,刘霞,等.白芷研究进展及地上部分资源开发展望[J].中医药导报,2018,24(18):54-57.
- [6] 倪红霞,王春梅.白芷总香豆素联合白芷挥发油对大鼠偏头痛的预防作用及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2018,44(3):487-492.
- [7] 国家药典委员会.中国药典·一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:105-106.
- [8] 国家药典委员会.中国药典·四部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:38-59.
- [9] 张利,马逾英,蒋桂华,等.白芷新型饮片中总香豆素与欧前胡素的含量测定[J].时珍国医国药,2011,22(1):80-81.
- [10] 常金花,李云,刘翠哲.3种水提预处理方法对白芷总香豆素提取物的影响[J].中成药,2018,40(5):1065-1069.
- [11] 马玉翠,吴翠,徐靓,等.白芷的产地盐腌干燥技术研究[J].中南药学,2018,16(3):317-321.
- [12] 刘晓昱,王佩.白芷香豆素类成分的提取及大孔树脂纯化的工艺研究[J].中华中医药学刊,2015,33(2):438-441.
- [13] 谢茹胜,叶燕珠,潘爱萍,等.白芷饮片中总香豆素与欧前胡素、异欧前胡素的含量测定[J].井冈山大学学报(自然科学版),2014,35(6):88-91.
- [14] 颜学军,陈光宇,钟鸣,等.湿疹纳米乳中丹皮酚包封率的测定[J].湖南中医药大学学报,2015,35(8):35-62.
- [15] 高彩芳,夏加璇,朱颖,等.纳米技术在改善中药有效成分成药性中的应用[J].中草药,2018,49(12):2754-2762.

(收稿日期:2018-11-21 编辑:罗英姣)