

# 超快速液相色谱与液面法测定榄香烯微乳的含量及包封率\*\*\*\*☆

刘星言<sup>1</sup>, 刘宏<sup>1</sup>, 周广林<sup>2</sup>, 展晓日<sup>2</sup>, 刘珺<sup>2</sup>, 曾昭武<sup>1</sup>, 丁元林<sup>1</sup>

## Drug content and entrapment efficiency of elemene microemulsion detected by ultra-fast liquid chromatography and liquid surface method

Liu Xing-yan<sup>1</sup>, Liu Hong<sup>1</sup>, Zhou Guang-lin<sup>2</sup>, Zhan Xiao-ri<sup>2</sup>, Liu Jun<sup>2</sup>, Zeng Zhao-wu<sup>1</sup>, Ding Yuan-lin<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Ultra-fast liquid chromatography is fast and accurate to detect content of elemene microemulsion.

**OBJECTIVE:** To detect the drug content and entrapment efficiency of elemene microemulsion using ultra-fast liquid chromatography and liquid surface method.

**METHODS:** The drug content of elemene microemulsion was determined by ultra-fast liquid chromatography. As elemene was insoluble in water and floated on water, liquid surface method was designed to detect the encapsulation efficiency of elemene emulsion.

**RESULTS AND CONCLUSION:** It was better for  $\beta$ -elemene to separate from accessories under the chromatographic conditions, and  $\beta$ -elemene at a dose of 3.94–27.58 mg/L had a good linear relationship. The elemene microemulsion was characterized as (8.273 ± 0.018) g/L in content of  $\beta$ -elemene, and (99.81 ± 0.24)% in average entrapment efficiency. The present study demonstrates that ultra-fast liquid chromatography and liquid surface method are simple, fast and accurate for determining the drug content and entrapment efficiency of elemene microemulsion. The elemene microemulsion has high entrapment efficiency.

Liu XY, Liu H, Zhou GL, Zhan XR, Liu J, Zeng ZW, Ding YL. Drug content and entrapment efficiency of elemene microemulsion detected by ultra-fast liquid chromatography and liquid surface method. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(16): 2898-2900. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

<sup>1</sup>Guangdong Medical College, Dongguan 523808, Guangdong Province, China;  
<sup>2</sup>Hangzhou Normal University, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China

Liu Xing-yan<sup>☆</sup>, Doctor, Associate researcher, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, Guangdong Province, China  
 lxy0428@126.com

Corresponding author: Ding Yuan-lin, Doctor, Professor, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, Guangdong Province, China  
 artgreenking@126.com

Supported by: the National Youth Science Foundation of China, No. 81001647\*; the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 9151051501000035\*; the Foundation of the Science and Technology Bureau of Zhejiang Province, No. 2009C33005\*; the General Program of China Postdoctoral Science Foundation, No. 20100471757\*

Received: 2012-01-04  
 Accepted: 2012-02-24

### 摘要

**背景:** 超快速液相色谱法具有快速、准确的优点, 可以用来检测榄香烯微乳的含量。榄香烯微乳的包封率目前尚没有较好检测方法。

**目的:** 采用超快速液相色谱与液面法测定榄香烯微乳的含量及包封率。

**方法:** 应用超快速液相色谱法检测榄香烯微乳含量, 根据榄香烯不溶于水而浮于水面的原理, 设计液面法检测榄香烯微乳的包封率。

**结果与结论:** 色谱条件下  $\beta$ -榄香烯与辅料分离良好,  $\beta$ -榄香烯在 3.94~27.58 mg/L 范围内线性关系良好。榄香烯微乳中  $\beta$ -榄香烯平均含量为(8.273±0.018) g/L, 平均包封率为(99.81±0.24)%。提示超快速液相色谱和液面法可用于检测榄香烯微乳的含量和包封率, 简单、快速且准确, 榄香烯微乳包封率好。

**关键词:** 榄香烯; 微乳; 超快速液相色谱法; 液面法; 包封率  
 doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.16.011

刘星言, 刘宏, 周广林, 展晓日, 刘珺, 曾昭武, 丁元林. 超快速液相色谱与液面法测定榄香烯微乳的含量及包封率[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(16):2898-2900. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

榄香烯(Elemene)是倍半萜类化合物, 其主要成分包括 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ -榄香烯3种同分异构体, 以 $\beta$ -榄香烯含量为多。榄香烯抗癌谱广泛, 疗效确切, 不良反应少<sup>[1]</sup>。目前在临床上广泛应用于恶性浆膜腔积液、肺癌、消化道肿瘤、脑瘤、妇科肿瘤、乳腺癌、皮肤癌等的治疗<sup>[2-3]</sup>。微乳是一种新型纳米药物载体, 稳定性好, 可提高生物利用度。超快速液相色谱法是一种快速高效分离检测技术, 其优点在于不影响正常分离度的情况下, 通过缩小填料粒度、增加流速的情况下, 缩短分析时间, 提高工作效率<sup>[4]</sup>。同时, 由于采用小颗粒填料, 增加了分析的通量、灵敏度及色谱峰容量, 比传统高效液相色谱法具有更高的分离能力<sup>[5]</sup>。根据榄香烯不溶于水而浮于水面的原理, 作者设计了液面法检测榄香烯微乳的包封率。

谱法具有更高的分离能力<sup>[5]</sup>。根据榄香烯不溶于水而浮于水面的原理, 作者设计了液面法检测榄香烯微乳的包封率。

## 1 材料和方法

**设计:** 重复测量实验。

**时间及地点:** 于2010-10/2011-06于广东医学院科研平台完成。

**材料:**

**主要试剂及仪器:** 榄香烯微乳(规格10 g/L, 批号: 09111901), 自制; 榄香烯原料药, 大连金港药业有限公司;  $\beta$ -榄香烯对照品(批号: 100268-200401), 中国药品生物制品检定所; XR-UFLC型超快速液相色谱仪、XR-ODS II型色谱C18柱(2.2  $\mu$ m, 75 mm×3.0 mm), 日本岛

<sup>1</sup> 广东医学院, 广东省东莞市 523808; <sup>2</sup> 杭州师范大学, 浙江省杭州市 310012

刘星言☆, 女, 1977年生, 湖南省湘潭市人, 汉族, 2009年中南大学湘雅医学院毕业, 博士, 副研究员, 主要从事纳米医药研究工作。lxy0428@126.com

通讯作者: 丁元林, 博士, 正教授, 广东医学院, 广东省东莞市 523808 artgreenking@126.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2012)16-02898-03

收稿日期: 2012-01-04  
修回日期: 2012-02-24  
(20111020007/G·W)

津公司; Optima MAX-XP型台式超速离心机、LS230型激光粒度分析仪, 美国贝克曼库尔特公司; 07HWS-1型数显恒温磁力搅拌器, 杭州仪表电机有限公司; BS224S型精密电子天平, 德国赛多利斯公司; 卵磷脂, 上海爱康精细化工有限公司; 胆固醇, 上海化学试剂公司; 葡聚糖凝胶G-100, Sweden; 乙腈, 德国默克公司; 纯化水, 自制。

#### 方法:

**榄香烯微乳样品溶液配制:** 取榄香烯微乳0.1 mL, 用80%乙腈水溶液稀释至50 mL。空白微乳样品溶液: 取空白微乳0.1 mL, 用80%乙腈水溶液稀释至50 mL。 **$\beta$ -榄香烯对照品溶液(19.70 mg/L):** 取 $\beta$ -榄香烯对照品98.5 mg用80%乙腈水溶液稀释至100 mL, 再取0.5 mL稀释至25 mL即得。

**色谱条件:** 参考作者以前报道的方法<sup>[6]</sup>, 色谱柱为C18柱, 流动相为乙腈: 水为80: 20, 柱温为40 °C, 检测波长为210 nm, 流速为1.0 mL/min, 进样量为5  $\mu$ L。

**色谱行为:** 取 $\beta$ -榄香烯对照品溶液、空白微乳样品溶液和榄香烯微乳溶液进样分析。 $\beta$ -榄香烯的保留时间约为4.8 min, 空白微乳在该处没有色谱峰, 表明辅料对榄香烯的测定无干扰。

**标准曲线:** 参考作者以前报道, 榄香烯在3.94~27.58 mg/L的浓度范围内线性关系良好<sup>[6]</sup>, 回归方程为 $Y=2\ 157.831\ 8^{\circ}C-311.428\ 6$ ,  $r=0.999\ 6$ 。

**精密测定:** 取质量浓度为15.76, 19.70, 23.64 mg/L的榄香烯对照品溶液, 于1 d和1周内重复进样3次, 进样量为5  $\mu$ L, 测定日内精密度和日间精密度。

**回收率测定:** 取16.55 mg/L榄香烯微乳样品溶液0.5 mL, 再加入低、中、高不同质量浓度(15.76, 19.70, 23.64 mg/L) $\beta$ -榄香烯对照品溶液各0.5 mL, 各测3次, 计算加样回收率。取空白微乳样品溶液0.5 mL, 再加入低、中、高不同质量浓度(15.76, 19.70, 23.64 mg/L) $\beta$ -榄香烯对照品溶液各0.5 mL, 各测3次, 计算空白回收率。

**榄香烯微乳中 $\beta$ -榄香烯的含量测定:** 取榄香烯微乳样品溶液1 mL进样检测, 重复3次。换算成榄香烯微乳的含量。

**液面法检测榄香烯微乳包封率:** 参考作者以前的报道<sup>[6]</sup>, 采用液面法检测, 根据榄香烯为挥发油, 不溶于水, 密度较水轻而浮于水面的原理, 以内部溶液浓度作为包封药物浓度计算包

封药量, 除以微乳溶液的总药量即得包封率, 从而设定本方法: 榄香烯微乳摇匀, 取2 mL置另管, 静置2 h后从中取出内部溶液0.1 mL, 用流动相稀释至50 mL, 进样检测, 设测得浓度为a。余下溶液用流动相稀释至50 mL, 再取1 mL稀释至25 mL, 进样检测, 设测得浓度为b。重复上述操作一次, 按下式计算包封率, 取平均值。

$$C_{内}=a \times 50 / 0.1, W_{总}=C_{内} \times (2\text{ mL}-V_{挥})=500 \times a \times (2\text{ mL}-V_{挥}),$$

$$W_{总}=a \times 50 + b \times 25 \times 50.$$

$$\text{包封率}=W_{总} / W_{总} \times 100\% = 10 \times a \times (2 - V_{挥}) / (a + 25b) \times 100\%$$

$V_{挥}$ 为液面处挥发油的体积, 根据实验所见, 榄香烯微乳表面没有明显油斑, 可知 $V_{挥}$ 至少小于0.05 mL, 则包封率 $> 19.5a / (a + 25b) \times 100\%$ 。以 $V_{挥}$ 为0.05 mL计算榄香烯微乳的包封率。

**主要观察指标:** 榄香烯微乳的含量与包封率。

## 2 结果

**2.1 精密度测定结果** 日内差异RSD为0.13%( $n=9$ ), 日间差异RSD为0.42%( $n=9$ ), 符合规定。

**2.2 回收率测定结果** 平均加样回收率为101.32%( $n=9$ ), RSD为0.51%, 符合规定。平均空白回收率为100.76%( $n=9$ ), RSD为0.79%, 符合规定。

**2.3 榄香烯微乳中 $\beta$ -榄香烯的含量** 榄香烯微乳中 $\beta$ -榄香烯含量为(8.273 $\pm$ 0.018) g/L, RSD为0.22%。

**2.4 液面法检测榄香烯微乳包封率** 以 $V_{挥}$ 为0.05 mL计算榄香烯微乳的包封率, 结果表明其平均包封率为(99.81 $\pm$ 0.24)%。

## 3 讨论

微乳是由油相、水相、乳化剂及助乳化剂在适当比例下自发形成的一种透明或半透明、低黏度、各向同性且热力学稳定的油水混合系统, 其作为药物载体可用于口服液体剂、经皮给药制剂、眼用制剂和注射剂中<sup>[7-15]</sup>。超快速液相色谱测定法可以提高分离效果, 加快检测速度, 从而达到批量、快速分析的目的。

本实验结果表明, 采用超快速液相色谱法可作为榄香烯微乳含量的质量控制方法, 其各

项指标均符合要求, 因此, 本法可用于检测榄香烯微乳的药物含量, 而且方便、快速且准确可靠。榄香烯为挥发油, 不溶于水, 密度较水轻, 因此榄香烯微乳中的游离榄香烯是浮于水面的, 水中溶解的榄香烯可以忽略不计。根据榄香烯不溶于水而浮于水面的原理, 作者认为游离榄香烯会聚集于水-气交界面。因此, 采用液面法, 通过检测榄香烯微乳内层溶液与微乳液的总药物浓度, 从而得出其包封率, 本实验的检测结果表明, 平均包封率为(99.81±0.24)%, 说明榄香烯微乳的液面上游离的榄香烯很少, 榄香烯基本位于微乳液内部, 符合要求。

#### 4 参考文献

- [1] Sun MG, Li SB, Zhou L, et al. Shenyang Yaoke Daxue Xuebao. 2009;26(8):620-622.  
孙敏鸽,李淑斌,周莉,等.榄香烯原料药的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2009,26(8):620-622.
- [2] Chen X, Wei FX, Qu YH. Hebei Huagong. 2003;26(6): 9-13.  
陈晓,魏福祥,瞿延辉.莪术中有效成分--榄香烯的研究进展[J].河北化工,2003,26(6): 9-13.
- [3] Yao SJ, Liu BY, Lv LY. Zhongyiyao Xuekan. 2006;24(3):456-457.  
姚淑娟,刘伯阳,吕丽艳.榄香烯提高肿瘤化疗药物疗效及免疫抑制作用的研究[J].中医药学刊,2006,24(3):456-457.
- [4] Cao Y, Zuo DY, Wu XL, et al. Shizhen Guoyi Guoyao. 2009;20(5): 1079-1080.  
曹悦,左代英,吴晓兰,等.超高效液相色谱法测定龙胆药材中的獐芽菜苦苷和龙胆苦苷[J].时珍国医国药,2009,20(5):1079-1080.
- [5] Liu M, Hao GX, Zhang M, et al. Zhongguo Zhongyao Zazhi. 2008; 33(3):319-321.  
刘梅,俞柱新,张勉,等.超高效液相色谱法同时测定丹参药材中丹酚酸B和丹参酮II A的含量[J].中国中药杂志,2008,33(3):319-321.
- [6] Zeng ZW, Li CL, Zhou GL. Zhongyiyao Daobao. 2010;16(7): 100-101.  
曾昭武,李毓璐,周广林.超快速液相色谱法测定榄香烯脂质体的含量与包封率的研究[J].中医药导报,2010,16(7):100-101.
- [7] Yin YM, Cui FD, Mu CF, et al. Docetaxel microemulsion for enhanced oral bioavailability: Preparation and in vitro and in vivo evaluation. J Control Release. 2009;140(2):86-94.
- [8] Barone G, Chang CT, Choc MG Jr, et al. The pharmacokinetics of a microemulsion formulation of cyclosporine in primary renal allograft recipients. The Neoral Study Group. Transplantation. 1996;61(6):875-880.
- [9] Bali V, Ali M, Ali J. Study of surfactant combinations and development of a novel nanoemulsion for minimising variations in bioavailability of ezetimibe. Colloids Surf B: Biointerfaces. 2010; 76(2):410-420.
- [10] Hathout RM, Woodman TJ, Mansour S, et al. Microemulsion formulations for the transdermal delivery of testosterone. Eur J Pharm Sci. 2010;40(3):188-196.

- [11] Al Wakeel J, Shaheen FA, Al Alfi A, et al. Cyclosporine microemulsion formulation (sigmasporin microral) effect as first-line immunosuppressant on renal functions at 3 years. Transplant Proc. 2012;44(1):94-100.
- [12] Li G, Fan Y, Li X, et al. In vitro and in vivo evaluation of a simple microemulsion formulation for propofol. Int J Pharm. 2012; 425(1-2):53-61.
- [13] Barot BS, Parejiya PB, Patel HK, et al. Microemulsion-based gel of terbinafine for the treatment of onychomycosis: optimization of formulation using d-optimal design. AAPS Pharm Sci Tech. 2012; 13(1):184-192.
- [14] Chudasama A, Patel V, Nivsarkar M, et al. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of itraconazole. J Adv Pharm Technol Res. 2011;2(1):30-38.
- [15] Zhang YT, Zhao JH, Zhang SJ, et al. Enhanced transdermal delivery of evodiamine and rutaecarpine using microemulsion. Int J Nanomedicine. 2011;6:2469-2482.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金声明:** 国家青年自然科学基金项目(81001647); 广东省自然科学基金项目(9151051501000035); 浙江省科技厅资助项目(2009C33005); 中国博士后科学基金面上项目(20100471757)。

**作者贡献:** 实验设计、实施、评估均为本文作者, 均经过正规培训。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 无涉及伦理冲突的内容。

#### 文章概要:

**文章要点:** 超快速液相色谱法具有快速、准确的优点, 可以用来检测榄香烯微乳的含量。榄香烯微乳的包封率目前尚没有较好检测方法。

**关键信息:** 文章采用了一种新的方法——液面法可以成功地检测榄香烯微乳的包封率, 具有简便、准确的优点。

**研究的创新之处:** 根据榄香烯不溶于水而浮于水面的原理, 作者认为游离榄香烯会聚集于水-气交界面。因此, 采用液面法, 通过检测榄香烯微乳内层溶液与微乳液的总药物浓度, 从而得出其包封率, 实验结果表明, 平均包封率为(99.81±0.24)%, 说明榄香烯微乳的液面上游离的榄香烯很少, 榄香烯基本位于微乳液内部, 符合要求。