

- [3] 李佳莲, 方磊, 张永清, 等. 麻黄的化学成分和药理活性的研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(7): 21-27.
- [4] 马勇, 徐瞰海, 徐海燕, 等. 麻黄研究进展[J]. 吉林中医药, 2008, 28(10): 777-779.
- [5] 丁丽丽, 施松善. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1661-1664.
- [6] 靳风云, 贺祝英, 赵杨, 等. HPLC测定华盖散传统汤剂与颗粒汤剂中盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、甘草酸、甘草苷的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 80-86.
- [7] 李玉山. 橙皮苷研究新进展[J]. 科技导报, 2009, 27(22): 108-115.
- [8] 钱俊臻, 王伯初. 橙皮苷的药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(1): 176-180.
- [9] 范蕾, 刘敏, 吴查青, 等. HPLC法同时测定四季感冒胶囊中橙皮苷和连翘苷的含量[J]. 中国药师, 2015, 18(6): 1054-1056.
- [10] 陆兔林, 李金慈, 于江泳, 等. 中药标准物质在中药饮片质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(1): 149-152.
- [11] 刘媛, 高文远, 张平, 等. 中药饮片质量控制的现状与对策[J]. 天津药学, 2003, 15(5): 43-48.
- [12] 肖永庆, 李丽, 刘颖. 加快中药标准饮片作为标准物质的基础研究步伐[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2428-2431.

薏苡仁油纳米粒的质量评价

郑利, 陈丹*, 黄群, 刘永静, 陈秀雄
(福建中医药大学药学院, 福建福州 350122)

摘要:目的 对薏苡仁油纳米粒进行质量评价。方法 透射电镜观察纳米粒的形态, 纳米粒度仪测定粒径及 Zeta 电位, TLC 法鉴别特征成分, GC 法测定油酸与亚油酸含量(两者性质不稳定, 故先测定其甲酯化产物油酸甲酯和亚油酸甲酯含量, 再换算成油酸与亚油酸含量), 超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)法测定甘油三油酸酯含量。结果 所制备的纳米粒圆整光滑, 大小均匀, 分散性能较好。平均粒径为(193.3 ± 0.8) nm, 平均 Zeta 电位为-(34.40 ± 5.82) mV。TLC 斑点清晰, 专属性强。油酸甲酯、亚油酸甲酯、甘油三油酸酯分别在 0.025 2 ~ 0.806 4、0.021 3 ~ 0.680 3、0.142 0 ~ 15.62 μg/mL 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 97.18% (RSD = 1.13%)、100.9% (RSD = 0.71%)、100.8% (RSD = 1.84%)。结论 该方法简便准确, 可用于控制薏苡仁油纳米粒的质量。

关键词: 薏苡仁油纳米粒; 油酸; 亚油酸; 甘油三油酸酯; TLC; GC; UPLC-MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)09-1963-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.09.019

Quality evaluation of *Coicis Semen* oil nanoparticles

ZHENG Li, CHEN Dan*, HUANG Qun, LIU Yong-jing, CHEN Xiu-xiong

(Department of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: **AIM** To evaluate the quality of *Coicis Semen* oil nanoparticles. **METHODS** The nanoparticles had their morphologies check under transmission electron microscope, and their particle sizes and Zeta potentials were determined by nanoparticle size analyzer. TLC was applied to identifying the characteristic constituents, GC was used for determining the contents of methyl oleate and methyl linoleate, the methyl esterification products of unstable oleic acid and linoleic acid through which the contents of oleic acid and linoleic acid were obtained after calculation. And ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) was adopted in the quantitative determination of glycerol trioleate. **RESULTS** The prepared nanoparticles were round and smooth with uni-

收稿日期: 2015-10-04

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2014Y0062); 福建省科技计划项目(2010Y2004)

作者简介: 郑利(1988—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂与质量控制。Tel: (0591) 22861135, E-mail: zhengly822@163.com

*通信作者: 陈丹(1961—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药制剂与质量分析评价。Tel: (0591) 22861135, E-mail: gscd2@

form size and good dispersion performance, whose average particle size was (193.3 ± 0.8) nm, and average Zeta potential was $-(34.40 \pm 5.82)$ mV. The clear TLC spots proved the strong specificity of the test. Methyl oleate, methyl linoleate and glycerol trioleate showed good linear relationships within the ranges of 0.025 2 - 0.806 4 mg/mL, 0.021 3 - 0.680 3 mg/mL and 0.142 0 - 15.62 μ g/mL, whose average recoveries were 97.18% (RSD = 1.13%), 100.9% (RSD = 0.71%) and 100.8% (RSD = 1.84%), respectively. **CONCLUSION** This simple and accurate method can be used for the quality control of *Coicis Semen* oil nanoparticles.

KEY WORDS: *Coicis Semen* oil nanoparticles; oleic acid; linoleic acid; glycerol trioleate; TLC; GC; UPLC-MS

禾本科植物薏苡的干燥成熟种仁薏苡仁 *Coicis Semen* 是福建省特色药食同源中药, 而薏苡仁油是其抗肿瘤有效部位, 临床上已被用于相关辅助治疗, 如康莱特注射液的功能性物质即为该成分, 常用于不宜手术的气阴两虚、脾虚湿困型原发性非小细胞肺癌及原发性肝癌的辅助治疗^[1-4]。薏苡仁油含有多种脂肪酸成分(亚油酸、油酸、棕榈酸等), 其中亚油酸与油酸含有量较高, 而且甘油三酯含有量可达87%以上, 代表性成分为甘油三油酸酯^[5-8]。

纳米粒药物载体既有较高的物理稳定性, 又有较好的缓释性, 不仅能提高药物的吸收, 延长药物在体内的循环时间, 还能增加药物成分的药时曲线下面积(AUC)和消除半衰期($t_{1/2\beta}$), 显著提高药物生物利用度^[9-10]。本课题组针对薏苡仁油的脂溶性、易氧化、不稳定等缺点, 结合纳米粒特性, 研究薏苡仁油口服纳米粒给药系统^[11], 在制备过程中使用可生物降解、安全性高、生物相容性好的聚乳酸-羟基乙酸聚合物(PLGA)^[12-14]吸附并包裹药物, 从而制成纳米粒子, 提高药物稳定性, 同时加入非离子型表面活性剂 poloxamer188^[15], 有利于聚合物分散和纳米粒的修饰。为了确保所制备的薏苡仁油纳米粒的质量稳定性, 本实验采用透射电镜扫描观察纳米粒的形态, 纳米粒度仪测定其粒径分布及Zeta电位, 建立TLC法定性鉴别, GC法测定易氧化成分油酸与亚油酸的含有量, 以及主成分甘油三油酸酯的超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)法, 可为薏苡仁油纳米粒的研究提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 6890N 气相色谱仪(美国安捷伦科技公司), 配置 Agilent 6890N 氢火焰离子化检测器(FID)、色谱工作站; Waters 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪, 配置四元输液泵、恒温自动进样器、柱温箱、电喷雾离子源、MassLynx V4.1 色谱工作站(美国 Waters 公司); NicompTM 380ZLS 纳米粒度仪(美国 PSS 公司); H-7650 透

镜电镜(日本 Hitachi 公司); XS 205 十万分之一、AR2140 万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); Milli-Q 纯水器(美国 Millipore 公司)。

1.2 试剂 甘油三油酸酯(批号 111692-201002)、亚油酸甲酯(批号 111625-200502)、薏苡仁油(批号 111750-201102)、亚油酸(批号 111622-201203)、油酸(批号 111621-201004)对照品(中国食品药品检定研究院); 油酸甲酯对照品(美国 Fluka 公司)。水杨酸甲酯(阿拉丁试剂[上海]有限公司, 批号 29412, 含有量 $\geq 99.5\%$); 薏苡仁油(广州合诚三先生物有限公司, 批号 HS-120902)。薏苡仁油纳米粒(制备方法为将聚乳酸-羟基乙酸聚合物与薏苡仁油分散于丙酮-乙醇中, 制成有机相, 再将 poloxamer188 分散于水相中, 在一定流速和温度下将有机相滴入水相, 搅拌, 旋蒸挥发有机相, 除去大粒子, 低温冷冻, 离心冻干, 即得。批号 20130719、20130726、20130806)。甲醇、乙腈为色谱纯(德国 Merck 公司); 甲酸、异丙醇为色谱纯; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 形态观察 取薏苡仁油纳米粒适量, 蒸馏水稀释适当倍数, 滴于专用铜网上, 2.0% 磷钨酸负染, 自然晾干后, 放入透射电镜中观察粒子的形态。结果, 薏苡仁油纳米粒形态圆整, 表面光滑, 大小均匀, 分散性能较好, 纳米粒之间基本无黏连, 见图1。

2.2 粒径分布及 Zeta 电位分析 取薏苡仁油纳米粒适量, 蒸馏水按一定倍数稀释, 测定其粒径和电位。结果, 空白纳米粒的粒径为 (182.3 ± 3.1) nm, 薏苡仁油纳米粒为 (193.3 ± 0.8) nm, 多分散指数(PDI)较小, 表面电位带负电荷, 平均 Zeta 电位为 $-(34.40 \pm 5.82)$ mV, 整个体系稳定性良好, 见图2。

2.3 TLC 鉴别 取薏苡仁油纳米粒 0.15 g, 2 mL

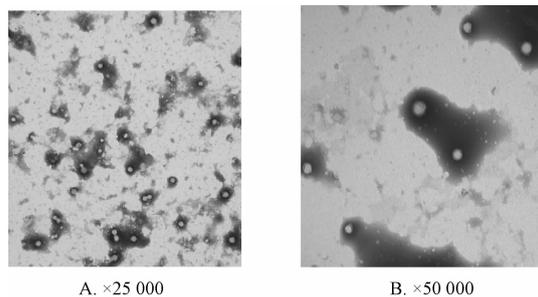


图1 透射电镜图

Fig. 1 Transmission electron microscope images

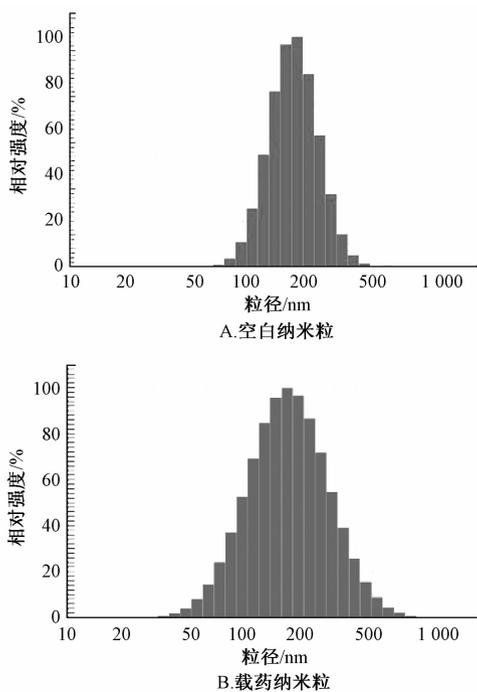


图2 粒径分布图

Fig. 2 Nanoparticle size distribution images

乙腈破解，石油醚（60~90℃）萃取两次，每次0.5 mL，合并石油醚层，作为纳米粒供试品溶液；取薏苡仁油0.1 g，2 mL石油醚溶解，作为薏苡仁油供试品溶液；取亚油酸、甘油三油酸酯、薏苡仁油对照品适量，加石油醚制成每1 mL含亚油酸21.75 mg、甘油三油酸酯40.48 mg、薏苡仁油40.75 mg的溶液，作为对照品溶液；取对照品甘油三油酸酯39.9 mg、亚油酸40.6 mg，石油醚2 mL溶解，制成每1 mL含甘油三油酸酯19.95 mg、亚油酸20.30 mg的混合对照品溶液；同法制备缺薏苡仁油空白纳米粒阴性对照品溶液。按照《中国药典》2010年版一部附录VI B试验，吸取对照品、阴性对照、供试品溶液各2 μL，点

于同一硅胶G薄层板上，以石油醚-乙酸乙酯-冰醋酸（25:5:1）为展开剂展开，取出，晾干，喷以0.5%香草醛-硫酸乙醇溶液，于105℃加热约5 min，置紫外光灯（365 nm）下检视。结果，供试品色谱在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色荧光斑点，阴性对照无干扰，见图3。



1. 甘油三油酸酯 2. 亚油酸 3. 混合对照品 4. 薏苡仁油对照品 5. 阴性对照 6. 原料 7~9. 3批纳米粒
 1. glycerol trioleate 2. linoleic acid 3. mixed reference substance 4. *Coicis Semen* oil reference substance 5. negative control 6. raw material 7~9. three batches of nanoparticles
- 注：由于油酸在TLC上的扩散情况比较严重，会影响其他点的显示，故未点样

图3 TLC色谱图

Fig. 3 TLC chromatogram

2.4 油酸与亚油酸含有量的测定

2.4.1 色谱条件 Agilent DB-WAX 毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）；载气（N₂）体积流量1.0 mL/min；空气体积流量300 mL/min；氢气体积流量30 mL/min；尾吹气体积流量45 mL/min；检测器FID，温度250℃；进样口温度220℃；进样量1 μL；分流进样，分流比10:1；柱温190℃。

2.4.2 对照品溶液的制备 取对照品油酸甲酯25.20 mg、亚油酸甲酯21.26 mg，置于5 mL量瓶中，氯仿溶解并稀释至刻度，摇匀，制成每1 mL含5.040 mg油酸甲酯、4.252 mg亚油酯甲酯的溶液，即得。

2.4.3 内标溶液的制备 取水杨酸甲酯对照品50.80 mg，置于10 mL量瓶中，氯仿溶解并稀释至刻度，制成每1 mL含5.080 mg水杨酸甲酯的内标溶液，即得。

2.4.4 供试品溶液的制备 精密称取薏苡仁油纳米粒0.1 g，2 mL乙腈破解，石油醚萃取3次，每

次 2 mL, 合并石油醚层, 置于 50 mL 圆底烧瓶中, 40 °C 水浴中减压浓缩至干, 加含 0.05% 2, 6-二叔丁基对甲酚的四氢呋喃溶液 1 mL 溶解, 5% 盐酸甲醇溶液 2 mL, 80 °C 水浴回流 2.5 h, 放冷, 移入 20 mL 具塞试管中, 5 mL 5% 氯化钠溶液多次洗涤圆底烧瓶, 洗涤液并入具塞试管中, 5 mL 正己烷振摇萃取, 正己烷层移入盛有 4 mL 2% 碳酸氢钾溶液的另一具塞试管中, 振摇, 分取正己烷层, 水层再用正己烷萃提两次, 每次 5 mL, 合并正己烷提取液, 置于 50 mL 圆底烧瓶中, 60 °C 水浴中减压浓缩至干, 残渣用氯仿溶解, 定量转移至 1 mL 量瓶中, 加入 40 μL 内标溶液, 氯仿稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4.5 阴性对照品溶液的制备 精密称取缺萸苡仁油空白纳米粒约 0.1 g, 按“2.4.4”项下方法操作, 即得。

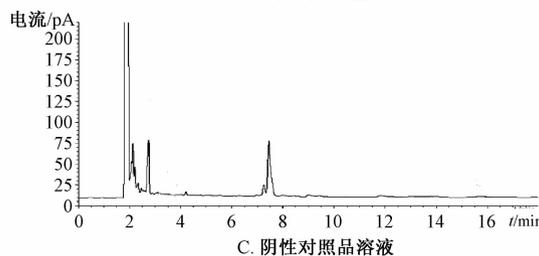
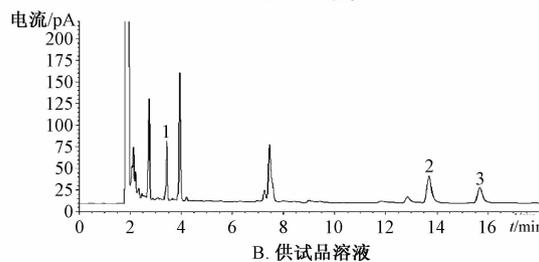
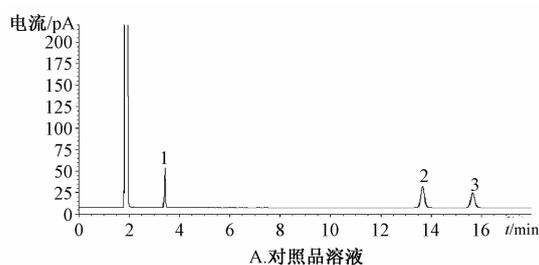
2.4.6 专属性试验 取油酸甲酯、亚油酸甲酯对照品溶液各 200 μL, 置于 5 mL 量瓶中, 加入内标溶液 200 μL, 氯仿稀释至刻度, 作为混合对照品溶液。分别吸取阴性对照品、混合对照品及供试品溶液各 1 μL, 在“2.4.1”项色谱条件下测定, 发现两者色谱峰分离完全, 阴性对照无干扰, 见图 4。

2.4.7 定量限考察 取对照品溶液适量, 按一定稀释倍数逐级稀释, 直至在“2.4.1”项色谱条件下能定量检测出油酸甲酯与亚油酸甲酯, 作为其最低定量限 ($S/N > 10$), 测得油酸甲酯为 5.040 μg/mL, 亚油酸甲酯为 4.252 μg/mL。

2.4.8 线性关系考察 精密吸取油酸甲酯、亚油酸甲酯对照品溶液各 25、50、100、200、400、800 μL, 置于 5 mL 量瓶中, 加入内标溶液 200 μL, 氯仿稀释至刻度, 即得系列混合对照品溶液。吸取 1 μL, 注入气相色谱仪测定, 以对照品与内标物的峰面积比为纵坐标 (Y), 对照品的质量浓度为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 得回归方程分别为油酸甲酯 $Y = 8.1444X - 1.2300 \times 10^{-2}$ ($r = 0.9996$)、亚油酸甲酯 $Y = 7.6922X - 2.7900 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9998$), 表明两者分别在 0.0252 ~ 0.8064、0.0213 ~ 0.6803 mg/mL 范围内呈良好的线性关系。

2.4.9 精密度试验 取同一混合对照品溶液, 进样 6 次, 测得油酸甲酯、亚油酸甲酯与水杨酸甲酯峰面积比值 RSD 分别为 0.28%、0.29%, 表明仪器精密度良好。

2.4.10 稳定性试验 取同一供试品溶液, 4 °C 下



1. 水杨酸甲酯 2. 油酸甲酯 3. 亚油酸甲酯
1. glycerol trioleate 2. methyl oleate 3. methyl linoleate

图 4 气相色谱图

Fig. 4 GC chromatograms

放置, 于 0、2、4、6、8、12、24 h 测定, 测得油酸 RSD 为 2.22%, 亚油酸 RSD 为 2.02%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.11 重复性试验 精密称取薏苡仁油纳米粒 0.1 g, 共 6 份, 按“2.4.4”项下方法制备供试品溶液, 在“2.4.1”项色谱条件下测定, 测得平均含有量 ($n = 6$) 分别为油酸 1.933 mg/g (RSD = 2.21%)、亚油酸 1.272 mg/g (RSD = 2.49%), 表明该方法重复性良好。

2.4.12 加样回收率试验 精密称取油酸与亚油酸含有量已知的同一批薏苡仁油纳米粒 50 mg, 共 6 份, 分别精密加入对照品溶液 (油酸甲酯 5.040 mg/mL、亚油酸甲酯 4.252 mg/mL), 按“2.4.4”项下方法制备供试品溶液, 在“2.4.1”项色谱条件下测定, 计算回收率, 结果见表 1。

2.4.13 样品含有量测定 精密称取薏苡仁油纳米粒 3 份, 每份约 100 mg, 按“2.4.4”项下方法制备供试品溶液, 在“2.4.1”项色谱条件下测定油酸甲酯与亚油酸甲酯的含有量, 并换算得到成油酸及亚油酸, 换算公式如下, 结果见表 2。

表1 油酸甲酯和亚油酸甲酯加样回收率试验结果 (n=6)
Tab.1 Results of recovery tests for methyl oleate and methyl linoleate (n=6)

成分	取样量/	原有量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回	RSD/
	mg	mg	mg	mg	%	收率/%	%
油酸甲酯	50.5	0.103	0.101	0.201	97.21	97.18	1.13
	50.2	0.103	0.101	0.199	95.66		
	50.0	0.102	0.101	0.201	98.47		
	50.4	0.102	0.101	0.199	96.60		
	50.1	0.104	0.101	0.201	96.73		
	50.5	0.102	0.101	0.201	98.40		
亚油酸甲酯	50.5	0.068	0.106	0.175	100.4	100.9	0.72
	50.2	0.069	0.106	0.175	99.75		
	50.0	0.067	0.106	0.174	101.4		
	50.4	0.068	0.106	0.175	100.9		
	50.1	0.068	0.106	0.175	100.9		
	50.5	0.067	0.106	0.174	101.8		

$$\text{油酸含有量} = \frac{W_1 \times M_2}{M_1} \quad \text{亚油酸含有量} = \frac{W_3 \times M_4}{M_3}$$

其中, W_1 为油酸甲酯含有量, W_3 为亚油酸甲酯含有量, M_1 为油酸甲酯相对分子质量, M_2 为油酸相对分子质量, M_3 为亚油酸甲酯相对分子质量, M_4 为亚油酸相对分子质量。

表2 油酸和亚油酸含有量测定结果 (n=3)

Tab.2 Determination results of the contents of oleic acid and linolic acid (n=3)

批号	油酸/	平均值/	RSD/	亚油酸/	平均值/	RSD/
	($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	%	($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	%
20130719	1.927	1.924	0.32	1.263	1.259	0.32
	1.928			1.259		
	1.917			1.255		
20130726	1.918	1.907	0.54	1.250	1.244	0.88
	1.906			1.251		
	1.898			1.231		
20130806	1.964	1.927	1.71	1.253	1.253	1.02
	1.908			1.266		
	1.907			1.241		

2.5 甘油三油酸酯含有量测定

2.5.1 对照品溶液的制备 精密称取甘油三油酸酯对照品 7.1 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 异丙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含 0.142 0 mg 甘油三油酸酯的溶液, 即得。

2.5.2 供试品溶液的制备 精密称取纳米粒 10 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入水-乙腈-异丙醇 (0.5 : 1 : 1) 2 mL, 超声 (500 W、40 kHz) 1 min, 0.1% 甲酸溶液稀释至刻度, 17 000 r/min 离心, 取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.5.3 阴性对照品溶液的制备 精密称取缺薏苡仁油空白纳米粒 10 mg, 按“2.5.2”项下方法操

作, 即得。

2.5.4 系统适用性试验

2.5.4.1 色谱条件 Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm); 保护柱 VanGuard BEH C_{18} 柱 (2.1 mm \times 5 mm, 1.7 μm); 流动相 A 为甲醇-乙腈-氨水调至 pH 3 的 0.1% 甲酸溶液 (19 : 19 : 2), B 为异丙醇, 两者比例 55 : 45; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 45 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.5.4.2 质谱条件 电喷雾离子源, 正离子电离方式 (ESI⁺); 离子源温度 100 $^{\circ}\text{C}$; 毛细管电压 2.8 kV; 锥孔电压 15 V; 气体体积流量 50 L/h; 脱溶剂气体体积流量 650 L/h, 温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 碰撞诱导解离 (CID) 电压 30 V, 多反应监测模式 (MRM), 用于定量分析的离子反应为 m/z 902.8 \rightarrow 603.2。

2.5.4.3 专属性试验 精密吸取对照品、供试品及阴性对照品溶液各 5 μL , 注入 UPLC-MS 色谱仪测定。结果, 该方法能有效检测指标性成分甘油三油酸酯, 而且阴性对照无干扰, 见图 5。

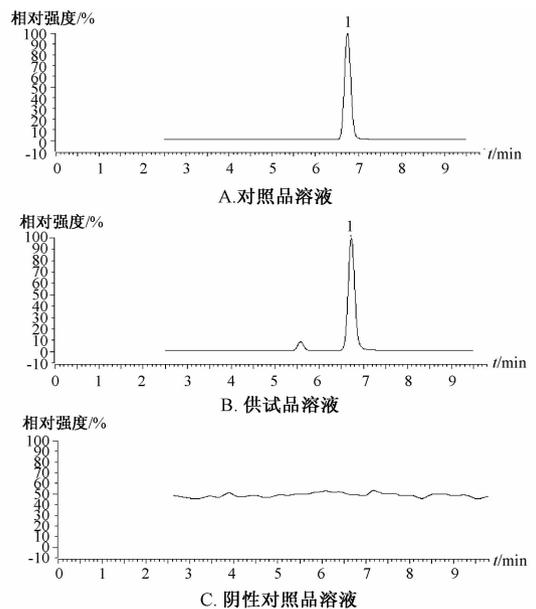


图5 甘油三油酸酯质谱多反应监测 (MRM) 图

Fig.5 Multiple reaction monitoring (MRM) chromatograms of glycerol trioleate

2.5.5 定量限考察 取“2.5.1”项下对照品溶液, 按一定稀释倍数逐级稀释, 直至在“2.5.4”项色谱条件下能检测出甘油三油酸酯, 作为其最低定量限 ($S/N > 10$), 测得甘油三油酸酯为 14.20 ng/mL。

2.5.6 线性关系考察 精密吸取“2.5.1”项下对照品溶液0.010、0.075、0.225、0.355、0.500、0.710、1.10 mL，置于10 mL量瓶中，0.1%甲酸溶液稀释至刻度，得到0.142 0、1.065、3.195、5.041、7.100、10.08、15.62 μg/mL对照品溶液，按“2.5.4”项下方法操作，记录色谱峰峰面积。以甘油三油酸酯质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线，得线性回归方程 $Y = 1.054 1 \times 10^3 X + 1.072 3 \times 10^2$ ($r = 0.999 4$)，表明甘油三油酸酯在0.142 0 ~ 15.62 μg/mL范围内呈良好的线性关系。

2.5.7 精密度试验 取5.041 μg/mL对照品溶液，在“2.5.4”项色谱条件下连续进样6次，测得甘油三油酸酯峰面积RSD为1.40%，表明仪器精密度良好。

2.5.8 稳定性试验 取同一供试品溶液，在“2.5.4”项色谱条件下，于0、2、4、8、12、24 h测定，测得甘油三油酸酯峰面积RSD为2.06%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.9 重复性试验 取同一批纳米粒约10 mg，共6份，按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.4”项色谱条件下测定，测得甘油三油酸酯平均含量为4.040 mg/g，RSD值($n = 6$)为1.83%，表明该方法重复性良好。

2.5.10 加样回收率试验 精密称取甘油三油酸酯含量已知的纳米粒5 mg，精密加入低、中、高(80%、100%、120%)3种水平的对照品溶液，每一水平3份，按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.4”项色谱条件下测定，计算回收率。结果见表3。

表3 甘油三油酸酯加样回收率试验结果 ($n = 9$)

Tab.3 Results of recovery tests for glycerol trioleate ($n = 9$)

称样量/ mg	原有量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
5.05	20.38	17.75	39.11	105.6		
5.05	21.42	17.75	39.42	101.4		
5.10	21.55	17.75	39.00	98.28		
5.15	21.48	22.01	43.79	101.4		
5.10	21.28	22.01	43.49	100.9	100.9	2.06
5.15	21.53	22.01	43.35	99.15		
5.10	21.25	26.27	47.86	101.2		
5.05	21.32	26.27	47.44	99.43		
5.10	21.19	26.27	47.55	100.3		

2.5.11 样品含量测定 精密称取3批纳米粒10 mg，按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液，

在“2.5.4”项色谱条件下计算甘油三油酸酯含量。结果见表4。

表4 甘油三油酸酯含量测定结果 ($n = 3$)

Tab.4 Determination results of the content of glycerol trioleate ($n = 3$)

批号	甘油三油酸酯/ (mg·g ⁻¹)	平均值/ (mg·g ⁻¹)	RSD/%
20130719	4.035	3.991	0.99
	3.978		
	3.959		
20130726	4.170	4.174	0.13
	4.172		
	4.180		
20130806	4.167	4.115	1.93
	4.024		
	4.154		

3 讨论

3.1 TLC法鉴定 在供试品溶液前处理中，比较了以水-乙腈-异丙醇(0.5:1:1)和直接用乙腈为破解剂，发现后者也可得到清晰斑点，展开效果较好，故选择这一简便方法。TLC法选择纳米粒中的主要成分甘油三油酸酯、亚油酸为作对照(油酸扩散情况比较严重，点样效果不理想，故未选择)，同时与薏苡仁油对照品比较，确定以石油醚-乙酸乙酯-冰醋酸(25:5:1)为展开剂。实验结果表明，纳米粒制备过程中的特征成分群与原料药成分群具有TLC特征图谱相关性。

3.2 GC法分析 根据纳米粒药效部位薏苡仁油的性质，建立了GC法定量测定性质不稳定的油酸、亚油酸含量。通过衍生化处理，先将两者甲酯化，测定油酸甲酯、亚油酸甲酯含量，再换算成油酸、亚油酸含量。同时，比较了石油醚和正己烷对纳米粒前处理的影响，发现石油醚处理杂质峰较少、峰面积更准确。另外，还考察了HP-5非极性毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)和DB-WAX极性毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)对薏苡仁油中各脂肪酸组分的分离影响，发现后者在190℃柱温下，可将纳米粒中各组分基本分离，而选择水杨酸甲酯作为内标物时，可与薏苡仁油中的脂肪酸组分达到良好分离，而且峰形尖锐。

3.3 UPLC-MS法分析 纳米粒药效组分薏苡仁油中的甘油三酯类化合物主要有甘油三油酸酯等，是其发挥抗肿瘤作用的主要特征成分，故本实验选择甘油三油酸酯作为质量控制指标。另外，考察了丙酮-乙醇、乙腈、丙酮、甲醇及水-乙腈-异丙醇溶剂，最终选择水-乙腈-异丙醇(0.5:1:1)作为

纳米粒破解剂,可有效破解并释放出纳米粒中的薏苡仁油,而且溶解完全,测定结果准确。根据药效部位的组成,在GC法测定油酸、亚油酸含有量的同时建立了UPLC-MS法定量控制甘油三油酸酯含有量,为薏苡仁油纳米粒质量控制的建立提供了可行的多指标、多角度、多层次定性定量方法,为相关标准的制定奠定了实验基础。

参考文献:

[1] Liu X M, Xu F, Wang G, *et al.* Kanglaite injection plus chemotherapy versus chemotherapy alone for non-small cell lung cancer patients: A systematic review and meta-analysis [J]. *Curr Ther Res Clin Exp*, 2008, 69(5): 381-411.

[2] Lu Y, Zhang B Y, Jia Z X, *et al.* Hepatocellular carcinoma HepG₂ cell apoptosis and caspase-8 and Bcl-2 expression induced by injectable seed extract of *Coix lacryma-jobi* [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2011, 10(3): 303-307.

[3] Lee M Y, Lin H Y, Cheng F, *et al.* Isolation and characterization of new lactam compounds that inhibit lung and colon cancer cells from adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) bran [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(6): 1933-1939.

[4] 包三裕, 张 洪. 康莱特注射液作用机理及临床应用研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27(1): 139-140.

[5] 郑 利, 陈 丹, 范世明, 等. 不同产地薏苡仁的鉴别及含量测定 [J]. 福建中医药大学学报, 2012, 22(5): 52-54.

[6] 中华人民共和国卫生部. 卫生部药品标准 (新药转正标

准): 第30册[S]. 2001: 29.

[7] 郑 利, 陈 丹, 曾令军. UPLC-MS 测定不同产地薏苡仁中甘油三油酸酯的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(2): 200-204.

[8] 向智敏, 祝 明, 陈碧莲, 等. HPLC-MS 分析薏苡仁油中的甘油三酯成分 [J]. 中国中药杂志, 2005, 20(18): 1436-1438.

[9] Ofokansi K, Winter G, Fricker G, *et al.* Matrix-loaded biodegradable gelatin nanoparticles as new approach to improve drug loading and delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(1): 1-9.

[10] Wu T H, Yen F L, Lin L T, *et al.* Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles [J]. *Int J Pharm*, 2008, 346(2): 160-168.

[11] 陈 丹, 郑 利. 一种薏苡仁油口服纳米粒及其制备方法: 中国, CN201410355208.5 [P]. 2014-07-24.

[12] Danhier F, Ansorena E, Silva J M, *et al.* PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications [J]. *J Control Release*, 2012, 161(2): 505-522.

[13] Mo Y, Lim L Y. Paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles: Potentiation of anticancer activity by surface conjugation with wheat germ agglutinin [J]. *J Control Release*, 2005, 108(2-3): 244-262.

[14] 沈 熊, 许根英, 董 颖, 等. 载汉黄芩素的 mPEG-PLGA 纳米粒的制备及体外评价 [J]. 中成药, 2014, 36(11): 72-75.

[15] 王慧欣, 王慧媛, 张 梦, 等. 泊洛沙姆 188-PLGA 纳米给药系统对抗耐肿瘤的研究 [J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(10): 1167-1170.