

有抑制作用^[9]，对兔血小板聚集具有抑制作用^[10]。

钩吻素子极具药用价值，而长久以来受限于传统的柱层析分离方法得率较低的原因，无法进一步应用开发，本研究采用了近年来先进的高速逆流色谱技术，成功地从中国钩吻中分离到了高纯度的钩吻素子，300 mg 钩吻总碱可以得到 75 mg 钩吻素子，得率达到 25 %，与传统方法相比，大大缩短了分离周期，一次高速逆流色谱仅需 1 d 就可以完成。如果在制备型高速逆流色谱仪上进行放大制备，进样量可以达到克~100 克量级，产量非常大，可以达到工业化生产的要求。在 HSCCC 基础上我们尝试采用 pH 区带精制逆流色谱(pH-zone-refining CCC)分离钩吻总碱^[11]，取得很好的效果，总碱进样量达到 1 g，得到的单体量可达几百毫克。因此，高速逆流色谱法为钩吻生物碱单体的研发提供了一种高效的分离制备方法，为下一步的研究打下坚实的基础。

本试验中高速逆流色谱分离纯化钩吻素子，提取方法高速有效，可用于钩吻生物碱的制备，应用前景广阔。

参考文献：

[1] 迟德彪，杨鸿轩，郑有顺. 钩吻研究进展[J]. 中药药理与临床，

2001，17(2)：48-49.

[2] 张琳，赵庆春，李艳. 钩吻生物碱成分的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报，2007，24(8)：515-520.

[3] 王尉，杜宁，周晓晶，等. 高速逆流色谱技术在天然产物研究方面的应用[J]. 现代科学仪器，2010，8(4)：123-128.

[4] 刘浩，许盈，石冬梅，等. 榕产钩吻的生物学研究[J]. 海峡药学，2008，20(4)：62-64.

[5] 郑卫. 逆流色谱技术在抗生素分离纯化中的应用[J]. 中国抗生素杂志，2005，30(3)：180-186.

[6] 刘铸晋，王绮文，王其灏. 钩吻素子的结构[J]. 化学学报，1986，44：157-172.

[7] 王志睿，张兰兰，黄昌全，等. 粤东产钩吻生物碱提取物的红外光谱与核磁共振谱分析[J]. 第一军医大学学报，2005，25(1)：54-56.

[8] 吴达荣，秦瑞，蔡晶，等. 钩吻素子抗肿瘤作用研究[J]. 中药药理与临床，2006，22(5)：6-8.

[9] 孙莉莎，雷林生，方放治，等. 钩吻素子对小鼠脾细胞增殖反应及体液免疫反应的抑制作用[J]. 中药药理与临床，1999，15(6)：10-12.

[10] 方放治，单春文，陈平雁. 钩吻素子对兔血小板聚集的影响[J]. 中药药理与临床，1998，14(1)：21-24.

[11] Su YP, Shen J, Xu Y, et al. Preparative separation of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. using pH-zone-refining counter-current chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218: 3695-3698.

(编辑：宋威)

复方姜黄素脂质立方液晶纳米粒中姜黄素和胡椒碱的包封率测定

付建武^{1,2}，涂瑶生^{1,2}，孙冬梅²，张建军²，施之琪²(1. 广州中医药大学，广东 广州 510405；2. 广东省中医研究所，广东 广州 510095)

摘要：目的 建立复方姜黄素脂质立方液晶纳米粒姜黄素和胡椒碱包封率的测定方法。方法 采用 HPLC 法测定，色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm)，流动相为乙腈-0.4 %磷酸(48:52)，流速为 1 mL·min⁻¹，检测波长为 343 nm，430 nm(波长转换时间：16.5 min)；采用微柱离心法和透析法测定包封率。结果 姜黄素在 1.8081~18.081 ng 范围内线性良好($r=0.9998$)；胡椒碱在 3.3331~33.331 ng 范围内线性良好($r=0.9999$)；微柱离心法和透析法测定姜黄素、胡椒碱的包封率分别为 59.52 %、56.02 %和 60.13 %、55.86 %。结论 采用微柱离心法和 HPLC 法可以快速、准确地测定复方姜黄素脂质立方液晶纳米粒姜黄素和胡椒碱的包封率。

关键词：姜黄素；胡椒碱；脂质立方液晶；微柱离心；透析法；包封率

中图分类号：R284.1

文献标志码：A

文章编号：1003-9783(2013)02-0200-06

doi：10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.026

收稿日期：2012-10-19

作者简介：付建武，男，博士研究生，研究方向：中药新制剂与新剂型的研究。Email: fujian132@foxmail.com。通讯作者：涂瑶生，男，研究员，研究方向：中药制剂的研究。Email: tuyaos@21cn.com。

基金项目：广东省自然科学基金项目(S2011010005927)；广州市科技计划项目(11C36080689)。

Entrapment Efficiency of Curcumin and Piperine in Compound Curcumin Lipid-based liquid Crystalline Nanoparticles

FU Jianwu^{1,2}, TU Yaosheng^{1,2}, SUN Dongmei², ZHANG Jianjun², SHI Zhiqi² (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Guangdong Provincial Institute of TCM, Guangzhou 510095 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a RP-HPLC method for the determination of the content and entrapment efficiency of curcumin and piperine in compound curcumin lipid-based liquid crystalline nanoparticles (LCNP). **Methods** The contents of curcumin and piperine in compound curcumin lipid-based LCNP were determined by HPLC. The column was Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm). The mobile phase was acetonitrile-0.4 % phosphoric acid (48 : 52) and the flow rate was 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 343 nm for curcumin and 430 nm for piperine (the converted time set at 16.5 min). The minicolumn centrifugation and dialysis methods were employed to isolate free curcumin and piperine for the entrapment efficiency. **Results** The curcumin was linear in the range of 1.8081~18.081 ng ($r=0.9998$) and the piperine in the range of 3.3331 ~ 33.331 ng ($r=0.9999$). The entrapment efficiency of curcumin and piperine determined by minicolumn centrifugation was 59.52 % and 56.02 %, and was 60.13 % and 55.86 % by dialysis method, respectively. **Conclusion** Minicolumn centrifugation combined with HPLC is able to determine the entrapment efficiency of curcumin and piperine in compound curcumin lipid-based LCNP quickly, accurately and conveniently.

Keywords: Curcumin; Piperine; Lipid-based liquid crystalline nanoparticles; Minicolumn centrifugation; Dialysis method; Entrapment efficiency

姜黄素(curcumin)是从姜黄及姜黄属植物中提取的天然有效成分。目前,被广泛应用于色素、食品添加剂及调味品当中。研究表明,姜黄素具有广泛的药理作用,如抗肿瘤、改善心血管功能、抗炎、抗病毒、保肝、增强免疫力等^[1]。姜黄素还具有作用靶点多、可改善的病理模型广泛、安全无毒等特性,显示出其良好的临床应用价值^[2]。但姜黄素易受到外界环境的影响,如金属离子、光、热,同时,姜黄素在体内吸收较差、生物利用度低。目前,为了提高姜黄素的稳定性和生物利用度,主要采取两种方法,一是通过与胡椒碱联合使用,研究表明,服用姜黄素后,同时给予一定量胡椒碱,姜黄素的生物利用度能够明显提高^[3]。另一种方法是通过药剂学技术,将姜黄素制备成纳米粒以提高生物利用度。本研究结合上述两种方法,将姜黄素与胡椒碱联合使用并制备成脂质纳米粒-复方姜黄素脂质立方液晶纳米粒^[4](liquid crystalline nanoparticles, LCNP),我们采用注入法制备复方姜黄素 LCNP,建立了复方姜黄素 LCNP 的含量测定方法,并比较了微柱离心法和透析法测定复方姜黄素 LCNP 包封率,为该制剂的处方工艺筛选与优化奠定了基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(VWD 检测

器,高压双泵,安捷伦科技有限公司); milli-Q advantage 超纯水器(密理博中国有限公司); kel-2000b 实验室高精度显微加热台(南京凯尔仪器有限公司); BX41-P 偏光显微镜(奥林巴斯有限公司); Q500 超声波破碎仪(美国 Misonix 公司); LEO 1430VP 扫描电镜(德国); LXJ-II B 低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂); XS205 型电子天平(梅特勒-托利多国际股份有限公司); HJ-4A 型数显恒温多头磁力搅拌器(金坛市顺华仪器有限公司)。

1.2 试药 姜黄素(四川金郁金科技开发有限公司,纯度 98 %);胡椒碱(海南尊鳌科技开发有限公司,纯度 95 %);姜黄素标准品(中国药品生物制品检定所,批号:110823-201004,纯度:98.8 %);胡椒碱标准品(中国药品生物制品检定所,纯度:99.2 %,批号:110775-201104);植烷三醇(东京化成工业株式会社,纯度 > 98 %); Lutrol F127(巴斯夫中国有限公司);葡聚糖凝胶 G-50(AR,上海雅吉生物科技有限公司);36 mm 透析袋(美国 Biosharp 公司);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 复方姜黄素 LCNP 与空白 LCNP 的制备 称取一定量植烷三醇于西林瓶中,加入姜黄素和胡椒碱无水乙醇溶液,超声 30 min,使其充分溶解,作为

有机相；另称取一定量的 F127 于烧杯中，加入一定量蒸馏水，水浴 60 ℃ 加热溶解，作为水相。将有机相缓慢滴入水相中，磁力搅拌 3 h，再于超声破碎仪超声 20 min，即得大小均一的复方姜黄素立方液晶混悬液。同法制得不加姜黄素和胡椒碱的空白 LCNP 混悬液。

2.2 复方姜黄素 LCNP 光学结构观察 脂质立方液晶为各向同性，在偏光显微镜下表现为暗视野。通过 drying 法^[9]处理后，在偏光显微镜下能显现出一定的结构花纹，如图 1。从图中可以看出空白 LCNP 和复方姜黄素 LCNP 均具有一定的扇形结构，表明经过 drying 法处理后结构晶型从立方液晶转变为六角液晶。当温度逐渐下降，结构晶型从六角液晶恢复为立方液晶，在偏光下再次表现为暗视野，说明立方液晶结构晶型已经形成。

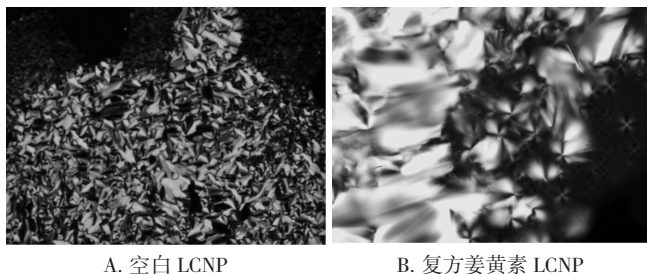


图 1 脂质立方液晶偏光显微镜图

Figure 1 Polarizing light micrographs of LCNP

2.3 扫描电镜观察 将复方姜黄素 LCNP 混悬液稀释至一定浓度，滴在样品台上，放置于干燥皿中自然干燥。样品干燥后放入离子溅射仪中镀金膜，再将样品置于扫描电镜中观察，结果见图 2。

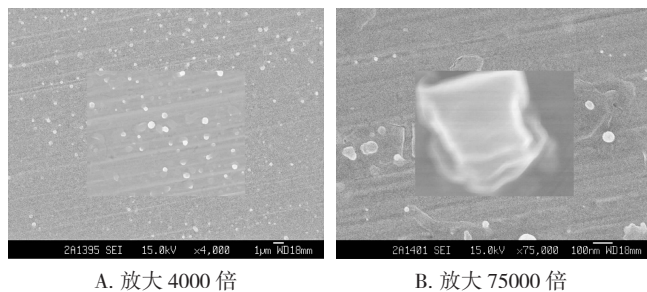


图 2 脂质立方液晶扫描电镜图

Figure 2 SEM micrographs of LCNP

由图 2 可见，复方姜黄素 LCNP 在水中分散较好，且粒径大小差异较小。通过放大电镜倍数发现，纳米粒为立方体结构，外观完整，且存在空间结构堆积。

2.4 复方姜黄素 LCNP 含量测定方法的建立

2.4.1 姜黄素对照品溶液的制备 取姜黄素对照品适

量，精密称定，置棕色量瓶中，加甲醇制成每 1 mL 含 15 μg 的溶液，即得。

2.4.2 胡椒碱对照品溶液的制备 取胡椒碱对照品适量，精密称定，置棕色量瓶中，加甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液，即得。

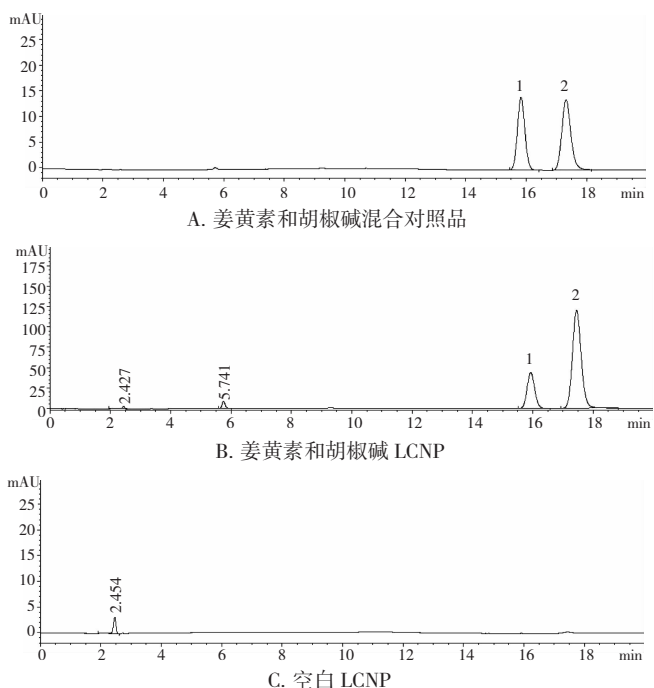
2.4.3 姜黄素 - 胡椒碱混合对照品溶液的制备 精密量取上述姜黄素和胡椒碱对照品溶液各 5 mL，置于棕色量瓶中，摇匀，即得。

2.4.4 复方姜黄素 LCNP 与空白 LCNP 破乳溶液的制备 取复方姜黄素 LCNP 混悬液 1 mL，置 10 mL 棕色量瓶中，加入甲醇超声处理 30 min，定容至刻度，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。同法制得空白 LCNP 破乳溶液。

2.4.5 色谱条件 色谱柱：kromasil-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)；流动相：乙腈 - 0.4 % 磷酸 (48 : 52)；流速：1 mL·min⁻¹；柱温：20 ℃；检测波长：343 nm, 430 nm (波长转换时间：16.5 min)。

2.4.6 专属性试验 分别取姜黄素和胡椒碱混合对照品溶液、复方姜黄素 LCNP 破乳供试品溶液和空白 LCNP 破乳供试品溶液，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，进样，记录色谱图，见图 3。结果表明，空白 LCNP 对复方姜黄素 LCNP 含量测定无干扰。

2.4.7 精密度试验 精密量取姜黄素和胡椒碱混合对照品 5 μL，重复进样 5 次，计算姜黄素和胡椒



1. 胡椒碱；2. 姜黄素

图 3 复方姜黄素液相色谱图

Figure 3 HPLC graphs of curcumin and piperine

碱峰面积 RSD 分别为 1.52 %和 1.98 %，方法精密度良好。

2.4.8 标准曲线的绘制 精密量取姜黄素和胡椒碱混合对照品溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 于 10 mL 量瓶中，用甲醇稀释并定容至刻度，进样，记录峰面积，以样品量 $X(\text{ng})$ 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线。姜黄素的回归方程为 $Y=8.88X+25.49$ ($r=0.9998$)，线性范围为 1.8081~18.081 ng；胡椒碱的回归方程为 $Y=4.372X+6.760$ ($r=0.9999$)，线性范围为 3.3331~33.331 ng。

2.4.9 重复性试验 精密量取复方姜黄素 LCNP 按照 2.4.4 项下方法制备 5 份，依法测定、计算，得姜黄素和胡椒碱 RSD 分别为 0.3 %和 0.93 %。

2.4.10 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液，分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进样，测定峰面积，结果显示姜黄素和胡椒碱的峰面积 RSD 均小于 2 %，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.11 回收率试验 准确量取已知浓度的复方姜黄素 LCNP 共 9 份，分别加入高、中、低 3 个浓度的混合对照品，每个 3 份，按照 2.4.4 项下方法制备供试品溶液，进样，计算回收率。姜黄素平均回收率为 99.12 %，胡椒碱平均回收率为 99.75 %，RSD 分别为 1.83 %和 1.65 %。

2.5 包封率测定

2.5.1 微柱离心法

2.5.1.1 微型凝胶柱的制备 取一定量 Sephadex G-50 用蒸馏水溶胀 12 h，放置于 1.0 mL 的注射器中 (0.5 cm × 10 cm)，以 2000 r·min⁻¹ 离心 3 min，去除柱中部分水分，葡聚糖凝胶 G-50 径高比约为 1 : 6。

2.5.1.2 洗脱曲线 精密吸取复方姜黄素 LCNP 混悬液 100 μL，加于 Sephadex G-50 凝胶柱顶部，以 500 r·min⁻¹ 离心 5 min，随后加入相同体积的蒸馏水洗脱，2000 r·min⁻¹ 离心 5 min，每 0.1 mL 收集一管，重复以上操作。洗脱液采用甲醇破乳稀释并定容至 1 mL，0.45 μm 微孔滤膜滤过，进样，测定胡椒碱和姜黄素的含量，绘制洗脱曲线图，结果见图 4。

由图 4 可知，随着洗脱倍量的增加，姜黄素和胡椒碱洗脱量明显减小。当洗脱倍量达到 6 倍之后，已无法检测到姜黄素，同时胡椒碱含量趋近于 0，故确定洗脱剂用量为 6 倍。游离姜黄素和胡椒碱均为脂溶性成分，无法被蒸馏水洗脱，因此，葡聚糖凝胶 G-50 能够很好地分离复方姜黄素 LCNP 和游离的药物，两者之间无空间交叉，不存在干扰，准确率

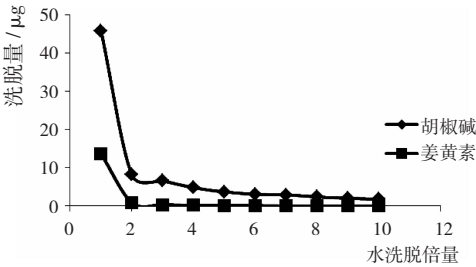


图 4 复方姜黄素脂质立方液晶洗脱曲线
Figure 4 The elution curve of curcumin combined with piperine LCNP

较高。
2.5.1.3 方法回收率 配制低、中、高 3 种浓度的姜黄素和胡椒碱混悬液，精密吸取上述混悬液 100 μL，加于 Sephadex G-50 凝胶柱顶部，500 r·min⁻¹ 离心 5 min，再用蒸馏水洗脱，2000 r·min⁻¹ 离心 5 min，收集 6 倍量洗脱液，用甲醇稀释并定容至 5 mL，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，进样，测定胡椒碱和姜黄素的含量。每一浓度平行测定 3 份，计算回收率，结果见表 1。

表1 复方姜黄素微柱离心方法回收率
Table 1 The recovery of minicolumn centrifugation for curcumin combined with piperine

药物	组别	洗脱前药物量 /mg	洗脱液药物量 /mg	平均回收率 /%
胡椒碱	低浓度	0.0231	0.0012	94.81
	中浓度	0.0405	0.0028	93.09
	高浓度	0.0811	0.0043	94.70
姜黄素	低浓度	0.0513	0.0014	97.31
	中浓度	0.1058	0.0023	97.85
	高浓度	0.2075	0.0027	98.70

由表 1 可知，姜黄素和胡椒碱混悬液经过微柱离心，回收率均在 93 %以上，说明葡聚糖凝胶 -G50 对姜黄素和胡椒碱几乎无吸附作用，该方法对分离姜黄素和胡椒碱效果较好。

2.5.1.4 加样回收率 精密量取姜黄素和胡椒碱混悬液适量，用空白 LCNP 定容至 5 mL，分别制备低、中、高 3 种不同浓度的混悬液，精密吸取上述混悬液 100 μL，加于 Sephadex G-50 凝胶柱顶部，用蒸馏水洗脱，收集 6 倍量洗脱液，用甲醇破乳稀释并定容至 5 mL，0.45 μm 微孔滤膜滤过，进样，测定胡椒碱和姜黄素的含量。每一浓度平行测定 3 份，计算回收率，结果见表 2。

由表 2 可知，通过微柱离心分离，计算得到姜黄素和胡椒碱的回收率均在 91%以上，表明 LCNP 对游离的姜黄素和胡椒碱无吸附，所测得结果不会因

表 2 复方姜黄素微柱离心加样回收率

Table 2 The average recovery of minicolumn centrifugation for curcumin combined with piperine

药物	组别	洗脱前药物量 /mg	洗脱液药物量 /mg	平均回收率 /%
胡椒碱	低浓度	0.0116	0.0009	91.95
	中浓度	0.0203	0.0017	91.60
	高浓度	0.0406	0.0033	91.86
姜黄素	低浓度	0.0257	0.0010	95.98
	中浓度	0.0529	0.0026	95.09
	高浓度	0.1038	0.0045	95.63

为葡聚糖凝胶和空白 LCNP 的吸附作用而产生较大偏差。

2.5.1.5 微柱离心法测定包封率 精密吸取复方姜黄素 LCNP 混悬液 100 μL，缓缓加于 Sephadex G-50 凝胶柱顶部，500 r·min⁻¹ 离心 5 min，再用蒸馏水洗脱，2000 r·min⁻¹ 离心 5 min，收集洗脱液，重复以上操作，合并 1~6 倍洗脱液，用甲醇稀释并定容至 5 mL，摇匀。精密吸取复方姜黄素脂质立方液晶混悬液 100 μL，加入甲醇破乳稀释并定容至 10 mL，摇匀，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，进样，计算姜黄素和胡椒碱的包封率。

2.5.2 透析法

2.5.2.1 透析袋的前处理 将透析袋剪成适当的长度，放入蒸馏水中浸泡并煮沸约 5 min，再用蒸馏水冲洗干净。

2.5.2.2 透析时间 精密量取 5 份复方姜黄素 LCNP 混悬液 2 mL 置透析袋中，加入 30 %PEG400 0.5 mL 使游离药物充分溶解，在室温下以 50 %乙醇作为透析介质，磁力搅拌。分别于第 4，8，12，24，48 h 取样并补足相应的体积，透析液氮气浓缩后，用甲醇稀释并定容至 5 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，进样，记录姜黄素和胡椒碱的峰面积，结果见表 3。

表 3 复方姜黄素 LCNP 不同透析时间的考察

Table 3 Dialysis time of curcumin combined with piperine LCNP

透析时间 /h	姜黄素峰面积 /mAU	胡椒碱峰面积 /mAU
4	4.9	10.7
8	6.2	13.6
12	7.7	15.2
24	7.9	15.9
48	8.1	16.1

由表3可知，当透析时间达到 12 h 后，姜黄素和胡椒碱峰面积增加不显著，说明 12 h 之后，透析已几乎达到了平衡，因此，透析时间选择 12 h。

2.5.2.3 方法回收率 配制低、中、高 3 种浓度的复方姜黄素 30 %PEG400 溶液，精密量取上述不同浓度溶液 2 mL 至透析袋中，在室温下以 50 %乙醇作为透析介质透析 12 h，磁力搅拌。透析液氮气浓缩后，用甲醇稀释并定容至 5 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，进样，测定胡椒碱和姜黄素的含量。每一浓度平行测定 3 份，计算回收率，结果见表 4。

表4 复方姜黄素透析法回收率

Table 4 The recovery of dialysis methods for curcumin combined with piperine

药物	组别	透析前药物量 /mg	透析液药物量 /mg	平均回收率 /%
胡椒碱	低浓度	0.0422	0.0405	95.97
	中浓度	0.0804	0.0763	94.90
	高浓度	0.1606	0.1523	94.83
姜黄素	低浓度	0.1006	0.0926	92.05
	中浓度	0.2026	0.1882	92.89
	高浓度	0.4024	0.3662	91.00

由表 4 可知，游离的姜黄素和胡椒碱在 30 %的 PEG400 溶液中呈溶解态，回收率均在 91 %以上，说明游离的姜黄素和胡椒碱可以顺利通过透析袋。

2.5.2.4 加样回收率 精密量取复方姜黄素 30 %PEG400 溶液适量，用空白 LCNP 定容至 5 mL，配制低、中、高 3 种浓度，精密量取上述不同浓度的溶液 2 mL 至透析袋中，以 50 %乙醇为透析介质，透析 12 h，磁力搅拌。透析液氮气浓缩后，用甲醇稀释并定容至 5 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，进样，测定胡椒碱和姜黄素的含量。每一浓度平行测定 3 份，计算回收率，结果见表 5。

表 5 复方姜黄素透析法加样回收率

Table 5 The average recovery of dialysis method for curcumin combined with piperine

药物	组别	透析前药物量 /mg	透析液药物量 /mg	平均回收率 /%
胡椒碱	低浓度	0.0211	0.0195	92.42
	中浓度	0.0402	0.0371	92.29
	高浓度	0.0803	0.0733	91.28
姜黄素	低浓度	0.0503	0.0457	90.85
	中浓度	0.1013	0.0913	90.13
	高浓度	0.2012	0.1817	90.31

由表 5 可知，空白 LCNP 对药物无吸附和干扰影响，回收率均在 90 %以上，说明测定结果不会因为空白 LCNP 的影响而导致包封率偏高。

2.5.2.5 透析法测定包封率 精密量取复方姜黄素 LCNP 混悬液 2 mL 至透析袋中，在室温下以 50 %乙醇为透析介质透析 12 h，磁力搅拌。透析液氮气浓

缩后，用甲醇稀释并定容至 5 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，进样。精密量取复方姜黄素 LCNP 混悬液 2 mL 至 25 mL 的量瓶中，用甲醇稀释并定容至刻度，0.45 μm 微孔滤膜滤过，进样，计算胡椒碱和姜黄素的包封率，结果见表 6。

表 6 微柱离心法和透析法包封率的测定

Table 6 The determination of entrapment efficiency by the mini-column centrifugation method and the dialysis

测定方法	姜黄素包封率 /%	胡椒碱包封率 /%
微柱离心法	59.52	56.02
透析法	60.13	55.86

由表 6 可知，微柱离心法和透析法测定姜黄素和胡椒碱包封率结果无明显差异，为提高测定效率，节约时间，简化操作，最终选择以微柱离心法测定复方姜黄素 LCNP 的包封率。

3 讨论

包封率是纳米制剂工艺和质量评价最重要的指标，根据药物性质和载体的不同，所选用的包封率测定方法亦不相同。本研究通过前期试验对比高速离心法发现，离心后游离的姜黄素和胡椒碱沉积于离心管底部，复方姜黄素 LCNP 漂浮于水面。这是由于姜黄素和胡椒碱不溶于水，在水中呈混悬状，且复方姜黄素 LCNP 所使用的脂质材料密度较水轻，故本研究最终未选择高速离心法。

在透析法中，游离的姜黄素和胡椒碱水溶性均较差，若选择 PBS 或水作为溶出介质，游离的药物

因溶解度下降聚集于透析袋外表面，导致包封率测定结果不准确。姜黄素和胡椒碱均能溶解于一定浓度的乙醇溶液中，同时参考文献^[6]方法，最终选择以 50 % 的乙醇作为透析介质。本研究选择微柱离心法测定药物的包封率，不仅能够保证结果的准确性，而且操作方便，效率更高。

参考文献：

[1] Radha K, Maheshwari K, Singh C, et al. Multiple biological activities of curcumin: A short review [J]. Life Sciences, 2006, 78 (18): 2081-2087.

[2] Miquel J, Bernd A, Sempere JM, et al. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review [J]. Archives of Gerontology and Geriatrics, 2002, 34(1): 37-46.

[3] Mohit K, Mahendra B, Shrinivas K, et al. Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral, biochemical and neurochemical changes[J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2009, 92(1): 39-43.

[4] Patrick T. Progress in liquid crystalline dispersions: cubosomes [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2005, 10(5-6): 274-279.

[5] Tomas L. Phase behavior in the system pine needle oil monoglycerides-poloxamer 407-water at 20 degree[J]. J. Phys. Chem., 1994, 98(34): 8453-8467.

[6] Shaikh J, Ankola DD, Beniwal V, et al. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009, 37 (3-4): 223-230.

(编辑：宋威)

2012 年本刊文献评价报告介绍

《中药新药与临床药理》为中药新药研发、中药临床药理学科重要的学术交流平台，学科影响指标、影响因子以及学科排序在全国同类期刊中位居前列，并全面进入国内重要的核心期刊评价系统，是中国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)、RCCSE 中国核心学术期刊，并被 WHO 西太平洋地区医学索引及美国化学文摘收录，成为中医药行业具有较高学术地位和重要影响力的期刊之一。

2012 年度文献评价指标：(1)《中国学术期刊影响因子年报》中复合影响因子 1.271，他引影响因子 1.228，基金论文比 0.81，总被引频次 2852，期刊综合影响因子 0.841，增长幅度为 22.59%，影响因子学科排序 5/19。(2)《中国科技期刊引证报告》核心版(1998 种期刊)中核心影响因子 0.706，核心总被引频次 1140，综合评价总分 54.2，在中医中药学类 69 种期刊中列第 9 位；而在扩刊版(6217 种期刊)中扩展影响因子 1.104，扩展总被引频次 1877，基金论文比 0.81，在药理学类 64 种及中国医药学类 86 种期刊中均列第 4 位。

传播趋势：本刊机构用户总数逐年增长，据 2012 年中国知网发行与传播统计报告，2011 年度机构用户数总计 3232 个，分布在 26 个国家和地区，下载总量达 8.44 万次，说明本刊网络化出版的传播趋势良好，已经引起了国内外研究者的高度关注，为加快本刊信息走向世界、全球共享提供了更高层次的交流平台。

《中药新药与临床药理》编辑部