

紫杉醇纳米粒制剂的含量测定方法研究

贵阳市妇幼保健院药剂科(550004) 廖 明
贵阳医学院附属医院药剂科(550004) 方 琴

中图分类号:R927.2 文献标识码:B 文章编号:1000-744X(2010)04-0349-02
doi:10.3969/j. ISSN. 1000-744X. 2010. 04. 026

紫杉醇(Paclitaxel, Taxol)是从红豆杉属植物紫杉的树干和树皮中提取的一种天然抗癌药物,临床研究已经证实了紫杉醇在抗多种实体肿瘤,包括乳癌、晚期卵巢癌、肺癌、脑部和颈部肿瘤以及急性白血病等方面都有重要而显著的作用^[1]。但其水溶性极低,疗效差,现临床上采用紫杉醇聚氧乙烯蓖麻油制剂注射液给药,给药后存在严重过敏反应等毒副作用,使用受到限制。为提高疗效,减少毒副作用,有不少学者报道了采用改变药物剂型,如靶向制剂和缓释制剂的给药方式,用聚乳酸-乙醇酸(PL-GA)包载紫杉醇纳米粒的理化性质和体外抗癌活性都显示了较好的特性,我们研究聚乙二醇/聚乳酸-乙醇酸(mPEG-PLGA)双亲性共聚物包载紫杉醇制备了纳米粒制剂^[2,3],并建立了其含量测定的HPLC法,取样量小,灵敏度高,快速简便,可用于紫杉醇纳米粒制剂的质量控制。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料 美国安捷伦 1100 型高效液相色谱仪;100 μ L Hamilton 进样器(美国);TCQ-250 超声仪(北京医疗设备二厂);Sartorius CP225D 1/100 000 电子天平;Sartorius BT214D1/10 000 电子天平(德国 Sartorius 公司)。紫杉醇纳米粒(自制,批号:090510、090513、090518、090522、090528、090610、090615、090620、090623、090625);紫杉醇对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100382-200301);mPEG-PLGA(济南岱罡生物技术有限公司);甲醇、乙腈(北京昌化精细化工厂,色谱纯);水为实验用超纯水。

1.2 色谱条件 Diamonsil_{C₁₈} 柱(4.6 mm \times 250

mm, 5 μ m), 流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液(60:40),流速为 1 mL/min,检测波长为 227 nm。

2 实验方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称紫杉醇对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 16.7 μ g 的溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备 取本品研细,取约 0.3 g 精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加流动相到相近刻度,超声溶 10 min,放冷,加流动相到刻度、摇匀。微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.3 空白样品的制备 取不含紫杉醇的纳米粒空白制剂,按“2.2”法制备,即得。

2.4 线性关系考察 以称紫杉醇对照品溶液分别进样 3 μ L、6 μ L、9 μ L、12 μ L、15 μ L、18 μ L,按含量测定方法测定,以峰面积为横坐标 X,紫杉醇进样量(μ g)为纵坐标 Y,绘制标准曲线,得到回归方程: $Y = 21\ 086X + 0.25$, $r = 0.999\ 9$ 。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 20 μ L,按上述色谱条件操作,重复进样 6 次,测定结果为:平均含量为 0.84 mg/mL, RSD 为 0.41%。

2.6 稳定性试验 取同一对照品溶液,按以上色谱条件在 0、2、4、6、8 h 测定,进样量 10 μ L, RSD 为 1.35% ($n = 5$)。表明紫杉醇溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取供试品,按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液,按上述色谱条件操作,测定结果为:平均含量 0.83 mg/mg, RSD = 0.98%。

2.8 回收率试验 精密取已测定含量的供试品溶液(平均含量 0.83 mg/mg)适量 6 份,每份各加入一定量的紫杉醇对照品,按上述色谱条件操作,测定结果见表 1。

表 1 供试品溶液中紫杉醇的回收率试验

实验次数	样品量(mg)	含紫杉醇(mg)	加入紫杉醇(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	10.5	8.715	8.6	17.48	101.9		
2	10.5	8.715	8.6	17.25	99.26		
3	10.5	8.715	8.6	16.99	96.18	99.4	2.73
4	10.5	8.715	8.6	17.08	97.25		
5	10.5	8.715	8.6	17.51	102.3		
6	10.5	8.715	8.6	17.51	102.3		

2.9 样品测定 按上述色谱条件操作,共测定 10 批号样品,进样 10 μ L,记录色谱图,测定峰面积,测定结果见表 2。

表 2 10 批产品中紫杉醇含量测定结果

批号	含量(mg/mg)		平均含量 (mg/mg)	10 批产品平均值 (mg/mg)
	1	2		
090510	0.87	0.89	0.88	
090513	0.84	0.86	0.85	
090518	0.83	0.85	0.84	
090522	0.85	0.83	0.84	
090528	0.80	0.82	0.81	0.841
090610	0.82	0.84	0.83	
090615	0.86	0.84	0.85	
090620	0.88	0.86	0.87	
090623	0.80	0.82	0.81	
090625	0.84	0.82	0.83	

从 10 批产品 20 个数据的测定结果看,各批次产品的紫杉醇含量均在 0.80 mg/mg 以上,10 批产品平均值为 0.841 mg/mg,故暂定本品每 1 mg 紫杉醇不得少于 0.80 mg。

3 讨论

纳米粒是一类粒径为 1~1 000 nm 的固体胶态

粒子,主要由天然或人工的高分子物质构成,这些高分子材料可以吸附、包裹或共价结合治疗药物。纳米粒最主要的特性在于其被动靶向性,进入循环系统后,通常被单核吞噬细胞系统(Mononuclear Phagocyte System, MPS)摄取而从血液中清除, MPS 主要分布于肝,其次是脾、肺、骨髓等。

本实验建立了 HPLC 测定紫杉醇纳米粒制剂中紫杉醇含量的色谱条件,并对该测定方法进行了方法验证。方法学考察结果表明,该法线性关系良好,回收率、精密度高,重复性良好,具有准确、灵敏的特点,可作为紫杉醇纳米粒制剂质量控制与评价的方法之一。

参考文献

- [1] 王爱民. 高效液相色谱法测定紫杉醇的含量[J]. 贵州师范大学学报, 1998, 16(2): 44-46.
- [2] 徐辉碧, 杨祥良, 谢长生, 等. 纳米技术在中药研究中的应用[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 161-163.
- [3] 王聚乐. 纳米药物的研究进展[J]. 西藏大学学报, 2002, 17(3): 43-45.

· 消 息 ·

2010 年贵州省心血管病学会、心电生理与起搏学会学术年会征文通知

经第四届贵州省心血管病学会、第三届省心电生理与起搏学会 2009 年 1 月 30 日常委会议研究, 决定于 2010 年 7 月(以正式通知为准)在贵阳市召开学术年会, 由贵阳市第一人民医院承办。本次年会将邀请省内知名专家作最新专题讲座, 并举办学术争鸣及疑难心血管病例讨论, 望各位踊跃投稿。贵州省医学会心血管病学会、心电生理和起搏学会委员请积极组织稿件, 并敬清务必参会。现将征文有关事项通知如下: 一、征文内容: 凡有关心血管病学、心电生理和起搏专业的内容均可。二、征文要求: 征文稿件仅要求摘要(500~800 字以内)一份, 请一律采用 word 文档, 并附上作者、单位、联系电话。不符合此要求的稿件恕不受理。稿件请发 Email 至: hunterdufeng@yahoo.com.cn, 也可直接寄至: 贵阳市博爱路 97 号贵阳市第一人民医院心内科杜峰、文美收(邮编 550002)。联系电话: 杜峰 13639075196, 文美 13985051425。征文截止日期: 2009 年 5 月 31 日。