

文章编号:(2003)03-0113-04

RP-HPLC 法测定多西紫杉醇脂质体药物含量

吴琼, 邓意辉, 王绍宁, 雷杰杰, 李毅

(沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要: **目的** 建立测定多西紫杉醇脂质体中药物含量方法。**方法** 采用 Dikma ODS 柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm, Dikma); 流动相: 乙腈-水 (50 : 50, V : V); 柱温: 室温; 流速: 1 mL·min⁻¹; 检测波长: 230 nm。**结果** 在本色谱条件下多西紫杉醇与辅料及溶剂峰分离良好, 多西紫杉醇在 5.05~40.4 mg·L⁻¹ 内线性关系良好 ($r = 1.0000$, $n = 5$), 回收率在 98.8% ~101.5% 内, 日内 RSD 及日间 RSD 均小于 2% ($n = 3$)。**结论** 方法准确可靠、简单快速, 可用于多西紫杉醇脂质体含量测定。

关键词 药剂学; 脂质体; RP-HPLC; 多西紫杉醇

中图分类号: R944

文献标识码: A

多西紫杉醇(docetaxel, 商品名为泰索帝)是一半合成紫杉醇衍生物, 该产品于 1995 年 4 月在墨西哥首次上市。现已在英、美、法、意、德、日等国家上市。多西紫杉醇能加快微管蛋白聚合成微管的速度并延缓微管的解聚作用, 导致形成稳定的非功能性的微管束, 从而破坏有丝分裂和细胞增殖。其细胞毒作用是紫杉醇的 1.3~12 倍。对多西紫杉醇与紫杉醇的细胞内药代动力学数据进行比较显示: 多西紫杉醇细胞内的药物浓度是紫杉醇的 3 倍; 细胞内贮留时间是紫杉醇的 3 倍; 药物表现为作用时间与浓度呈依赖性^[1]。多西紫杉醇临床用于乳腺癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、软组织肉瘤、头颈癌、胃癌、卵巢癌和前列腺癌等, 单独用药和联合用药均有显著疗效^[2]。由于多西紫杉醇水溶性差, 现有注射剂 (40 g·L⁻¹) 是采用吐温-80 (tween-80) 作溶剂, 同时配有含 13% (ϕ) 乙醇的溶媒, 由于吐温-80 具有溶血性, 且黏性大, 给临床用药带来不便, 有必要研发新的制剂。

脂质体是一种以磷脂等物质作为膜材而构成的, 具有封闭囊泡结构的药物载体。国外已将紫杉醇制成脂质体, 并进入了一期临床^[3], 基于此, 作者制备了多西紫杉醇脂质体, 该脂质体国内未见报道。有关多西紫杉醇的 RP-HPLC 法多数为体内分析^[4,5], 脂质体制剂中多西紫杉醇含量的 RP-HPLC 法, 国内外未见报道, 为控制所制脂质体的质量, 建立了 RP-HPLC 法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 (大连依利特), UV2000 紫外可变波长检测器 (大连依利特), EChrom98 色谱数据处理工作站 (大连依利特); 色谱柱: Dikma ODS 柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm, Dikma); 多西紫杉醇原料药 (齐鲁制药厂, 含量 99% 以上); 多西紫杉醇对照品 (精制品 色谱峰为单峰); 多西紫杉醇脂质体 (自制); 甲醇、乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

收稿日期: 2003-08-26

作者简介: 吴琼 (1979-), 女 (汉族), 硕士研究生; 邓意辉 (1964-), 男 (汉族), 博士, 副教授, 主要从事药物靶向新剂型的研究, Tel: (024) 23843711-3338, E-mail: dengyh@mail.sy.ln.cn。

2.1 色谱条件

色谱柱: Dikma ODS 柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm, Dikma); 流动相: 乙腈-水 (50:50, V/V); 柱温: 室温; 检测波长: 230 nm, 理论塔板数不低于 5 000; 进样量: 20 μL; 外标法。

2.2 检测波长的确定

取多西紫杉醇对照品适量, 用流动相溶解并制成每 20 mg·L⁻¹ 的多西紫杉醇溶液, 于 200 ~ 400 nm 内进行紫外扫描, 结果表明多西紫杉醇在 (230 ± 1) nm 处有最大吸收, 故而确定测定波长为 230 nm。

2.3 色谱行为

取多西紫杉醇对照品溶液、多西紫杉醇脂质体破乳溶液各 20 μL 进样分析, 得色谱图 1。由图可知, 药物峰形良好, 辅料对药物测定无干扰。

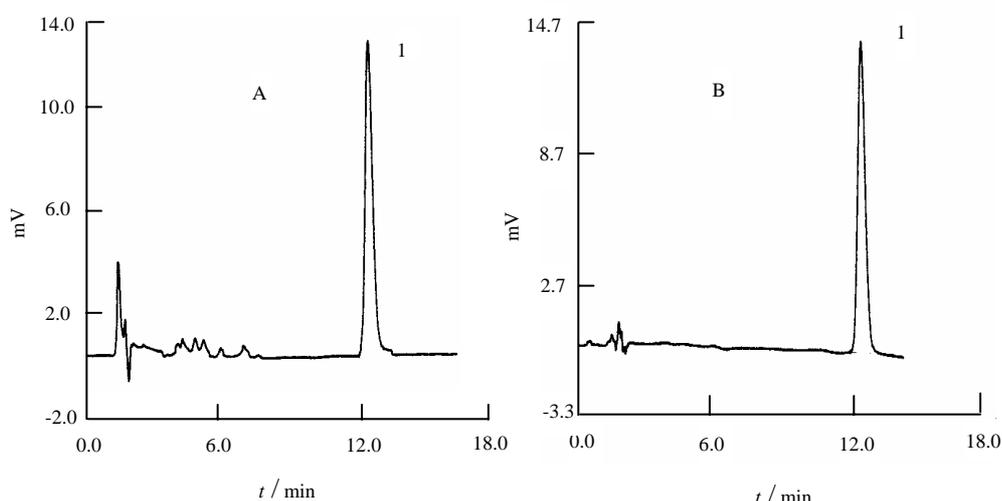


Fig. 1 HPLC chromatograms of docetaxel

A—Reference substances; B—Liposomes; 1—Docetaxel

2.4 标准曲线

以甲醇为溶媒, 准确配制 0.1 g·L⁻¹ 的多西紫杉醇对照品贮备液, 置 4 °C 冰箱中保存。分别精密吸取多西紫杉醇对照品贮备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 以流动相定容至刻度, 摇匀, 得 5.05、10.1、20.2、30.3、40.4 mg·L⁻¹ 的系列溶液, 分别进样 20 μL, 记录峰面积 (A), 以峰面积对质量浓度进行线性回归, 得方程: $A = 16.21\rho + 7.74$, $r = 1.0000$, 表明在 5.05 ~ 40.4 mg·L⁻¹ 内质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 检测限和定量限

将多西紫杉醇对照品溶液稀释不同倍数, 进行 HPLC 分析, 测得其检测限 (S/N=3) 为 10 ng; 定量限 (S/N=10) 为 30.0 ng。

2.6 重复性

取标准曲线项下质量浓度分别为 5.05、20.2、40.4 mg·L⁻¹ (低、中、高) 3 个对照品贮备液, 于不同时间进样, 计算日内精密度和日间精密度: 日内 RSD 分别为 1.4%、1.3%、1.0%; 日间 RSD 分

别为 1.7%、1.5%、1.2%。

2.7 回收率

精密量取空白脂质体 1.0 mL，按处方比例的 $\pm 20\%$ 加入多西紫杉醇，混匀，加入甲醇溶解后，定量转移至 10 mL 量瓶中，并用甲醇稀释至刻度，摇匀。精密量取 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中，以乙腈-水 (9 : 1) 稀释至刻度，摇匀即得样品溶液，分别进样 20 μL ，测定峰面积，代入标准曲线换算成实际测定浓度，计算回收率，结果见表 1。

Table 1 The recovery of adenosine ($n=3$)

Added / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Detected / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Recovery / %	RSD / %
16.0	16.1	100.6	1.3
20.2	20.5	101.5	1.6
24.4	24.1	98.8	0.7

2.8 多西紫杉醇脂质体含量测定

精密量取多西紫杉醇脂质体 1.0 mL (相当于多西紫杉醇 2 mg)，置于 10 mL 量瓶中，加入甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀。精密量取 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中，以乙腈-水 (9 : 1) 稀释至刻度，摇匀即得样品溶液，进样 20 μL ，测定峰面积，按外标法计算出供试品中多西紫杉醇的含量，结果见表 2。

Table 2 The content of docetaxel in liposomes ($n=3$)

Batch No	Content / %	RSD / %
020403	100.8	1.1
020405	101.3	0.8
020406	101.2	1.1

3 讨论

由于多西紫杉醇在流动相中的紫外最大吸收波长为 230 nm，在此波长处，磷脂有干扰，故不能用紫外分光光度法进行含量测定。通过筛选，采用乙腈-水 (50 : 50) 为流动相，该流动相具有配制简单，色谱柱平衡迅速等优点。

参考文献：

- [1] 李定纲, 王今. 新一代紫杉类抗癌药物—泰素帝(多西紫杉醇 Docetaxel) [J]. 世界药品信息, 2002,3 (3): 12-13.
- [2] SONG Qin-xin, Yu Li-xin. New clinical applications of docetaxel [J]. Chinese Journal of New Drugs (中国新药杂志), 2001, 10 (12): 900-903.
- [3] Treat JA, Huang C, Damjanov N, *et al.* Phase I trial in advanced malignancies with Liposome Encapsulated Paclitaxel (LEP) [J]. Lung Cancer, 2000, 29(Supplement 1): 64.
- [4] Garg MB, Ackland SP. Simple and sensitive high-performance liquid chromatography method for the determination of

docetaxel in human plasma or urine [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2000, 748 (2): 383-388.

- [5] Ciccolini J, Catalin J, Blachon MF, *et al.* Rapid high-performance liquid chromatographic determination of docetaxel (Taxotere) in plasma using liquid-liquid extraction [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 759 (2): 299-306.

RP-HPLC determination of content of docetaxel liposome

WU Qiong, DENG Yi-hui, WANG Shao-ning, LEI Jie-jie, LI Yi

(*School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China*)

Abstract Objective: To establish a RP-HPLC method for the content of docetaxel in liposomes. **Methods:** A Dikma ODS column(4.6 mm × 200 mm ,5 μm)was used, the mobile phase was acetonitrile-water(50 : 50) , flow rate was 1 mL ·min⁻¹ and the maximum detection wavelength was 230 nm. **Results:** There is a good linear relation between the area and concentration of docetaxel in the range of 5.05~40.4 mg · L⁻¹ ($r = 1.000 0, n = 5$) , the intra-day RSD and inter-day RSD were less than 2%, the average recovery was between 98.8%~101.5%. **Conclusion:** This method is simple, accurate, sensitive and applicable for determination of docetaxel in liposomes.

Key words: pharmaceutics ; liposome ; RP-HPLC ; docetaxel