

磁性微球中5-Fu释放液的紫外分光光度法测定¹

吴阿富 彭道兴 黄欣欣 吴光华 陈国璋 (浙江医科大学, 杭州 310006)

戚文彬 (杭州大学, 杭州 310012)

摘要 研究了载有抗癌药物5-氟尿嘧啶(5-Fu)的磁性牛血清白蛋白微球(FMAM)的药物体外释放测定条件以及与释放相关的特性。

实验表明测定的灵敏度和准确度与试液的pH相关;实验提示,在pH6.05~7.50区间内5-Fu可发生烯醇型互变异构转化,用紫外分光法可以测定转化率;实验结果说明微球制备固化温度愈高,则药物释放速度愈慢,在相同的制作工艺下,磁性流体投量增加,则释放速度加快,但在该实验条件下,磁性流体增加至50 μ l以上时,不受影响。

关键词 5-氟尿嘧啶 紫外分光光度法 磁性流体

有关5-Fu的测定有多种方法,但是以磁性流体作为磁导向介质^[1],以牛血清白蛋白作为磁性微球载体制成的FMAM^[2]体外释放的紫外分光法测定未见报导。本文着重讨论紫外分光光度法的测定条件以及FMAM中的药物释放特性。

实验部分

1 仪器

可见紫外分光光度计(UV-2000,日本岛津)牛角形磁铁;超声波发生器(250W);超级恒温器(501型);pH计;电动搅拌机;显微境;电子天平等。

2 试剂

5-Fu标准品(上海试剂二厂);乙醚(AR)吐温-80(AR)、生理盐水、FMAM、盐酸、氢氧化钠等。

3 方法

3.1 标准曲线的绘制 精密称取5-Fu标准品0.010g,以25ml 0.1%吐温80—生理盐水溶解后

定量地转移至100ml容量瓶中,稀释至刻度、摇匀。作标准品储备液备用。用移液管分别准确移取2、4、6、8、10、12ml储备液于6个25ml容量瓶中,以上述溶液稀释至刻度,摇匀,然后以0.1%吐温80—生理盐水为参比、pH6.7下,依次在UV-2000型可见—紫外分光光度计扫描得A~ λ 曲线,进而线性回归得A~C曲线。

3.2 $A_{10m}^{1\%}$ 265nm与pH的相关性 实验中发现, $A_{10m}^{1\%}$ 265与试液pH相关,所以配制不同pH值的试液和相应的参比,测定吸光度A,计算百分吸光度 $A_{10m}^{1\%}$ 265nm。

3.3 释放药量测定 不同固化温度下制作的FMAM,经乙醚充分洗涤,在1650mT的外加磁场下沉降分离,然后真空干燥,置于干燥器内备用。准确称取一定量的FMAM置于超声杯中,然后准确加入15ml 0.1%吐温80—生理盐水,经超声波发生器超声振荡2min后(取样于显微镜下观察检查)使载药磁性微球均匀地分散于溶液,再将其定量地

¹ 国家自然科学基金资助课题

转移至分离管,在1650 mT 外加磁场下沉降分离,在分离掉上清液的沉降微球中再用移液管准确加入上述溶液15 ml,置于501型超级恒温器中,在37℃、pH 6.7、搅拌速度 500 转/min 下释放。取样量为 5.00 ml,每次取出5.00 ml 后,同时补充5.00 ml 0.1%吐温80—生理盐水,如此连续释放测定两昼夜。

3.4 磁性流体用量: 在一定的制作工艺下,改变不同的磁性流体的体积用量制备磁性微球采用相同方法测定,探讨磁性流体的体积用量对药物释放速度的相关性。

2.5 参比空白的制备 虽在强磁场下沉降分离,仍有少许肉眼所不能见的细微磁粉分散于清澈透明的上清液中干扰测定,为此制备参比空白以消除对测定的干扰。

3.6 回收率 在已知浓度的 FMAM 释放试液中加入不同体积的标准溶液,测得回收率为:100.68% + 0.86% CV = 0.81%。

结果与讨论

1 吸光度A与标样浓度C(或体积V)的线性关系
pH 6.7时, A~C 线性回归方程为: $A = 0.518C - 0.00307$, 相关系数: $r = 0.99986$, $A_{1cm}^{1\%}$ 265 nm = 516 ± 1.67 , CV = 0.65%

2 $A_{1cm}^{1\%}$ 265 nm 与 pH 值的相关性 由图明显可见有三个 pH 区间: 最佳定量区间是 $2.38 \leq pH \leq 6.05$, 灵敏度高, 误差小; $6.05 < pH < 7.7$ 区间、灵敏度次之, 但当 pH 控制不平时容易带进测定误差; $pH \geq 7.7$ 区间灵敏度低, pH 对测量误差影响小。

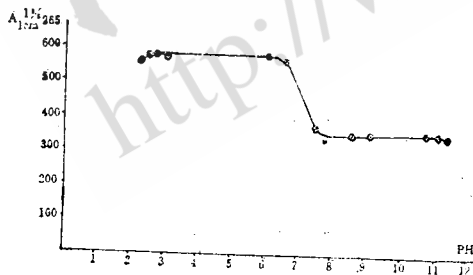
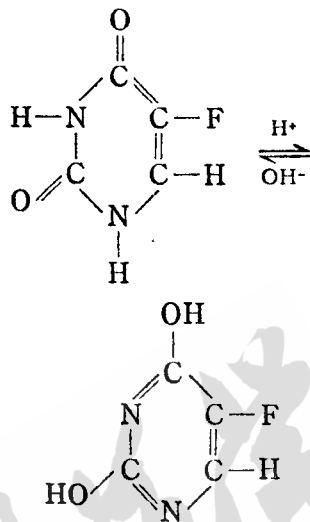


图1 pH 值(试液)对 $A_{1cm}^{1\%}$ 265 的影响

3 实验提示 当 $pH \geq 7.0$ 后, 出现 R 吸收谱带可能由于分子中二个活泼的二酰亚胺基, 存在下列

的烯醇型互变异构, 而过程是可逆的。



这种烯醇型互变异构的转折点是 $pH 6.05, 6.05 < pH < 7.50$ 间转化迅速, 根据紫外分光光度法可以测定转化率。见图 1、2。

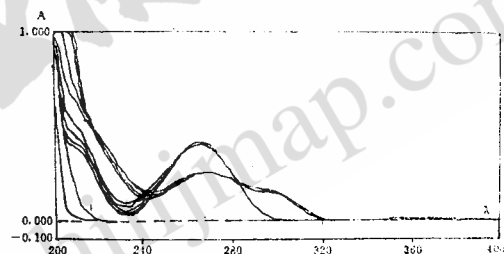


图2 5-Fu 0.1%吐温80—生理盐水溶液在不同 pH 值下的吸收光谱

4 细微磁粉对测定的干扰 干扰使吸收光谱严重变形、峰形不明显、峰形成锯齿状、末端吸收下降, 采用制备空白作参比可消除干扰。(见图 3)

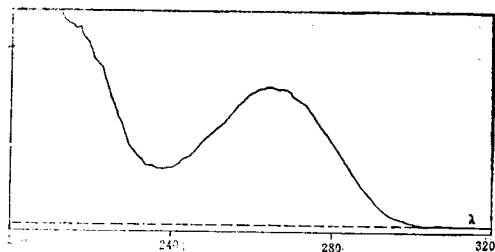


图3 消除干扰后的样品释放液扫描曲线

5 固化温度对药物释放的影响 制备微球固化温度愈高则微球内药物 5-Fu 释放速度愈慢。(见图 4 表 1)

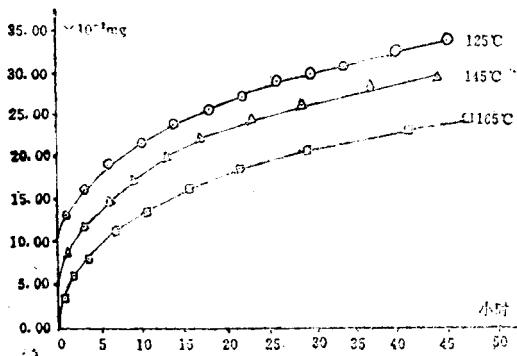


图4 固化温度对药物释放的影响

表1 不同的固化温度载药 FMAM 药物释放量

测定序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
125℃	累积时间 t(h)	1	3	6	10	14	18	22	26	30	34	40	46
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	12.99	16.00	19.02	21.18	23.24	24.63	26.43	28.51	29.31	30.10	31.68	32.93
145℃	累积时间 t(h)	1	3	6	9	13	17	23	29	37	45		
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	8.87	11.90	14.72	17.20	19.65	21.70	23.75	25.75	27.85	28.72		
165℃	累积时间 t(h)	0.5	1.5	3.5	6.5	10.5	15.5	21.5	29.5	41.5	48.5		
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	3.42	6.03	7.96	11.10	13.24	15.80	18.02	20.01	22.70	24.08		

表2 不同磁性流体用量载药 FMAM 药物释放量

测定序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
10 μ L	累积时间 t(h)	1	4	10	19	31	44				
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	4.66	7.75	10.51	14.10	16.10	17.60				
25 μ L	累积时间 t(h)	1	4	10	19	31	44				
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	6.91	9.83	13.5	18.6	20.3	22.2				
50 μ L	累积时间 t(h)	1	3	6	9	13	17	23	29	37	45
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	6.40	13.3	17.0	19.9	23.7	25.7	28.3	30.1	32.1	34.1
75 μ L	累积时间 t(h)	1	4	10	19	31	44				
	释放药量 ($\times 10^{-2}$ mg)	9.00	13.2	20.6	26.8	31.8	33.9				

6 磁性流体的用量对释放的影响 实验结果表明磁性流体用量 FMAM 药物体外释放速度快, (相制作工艺), 但在该实验条件下, 磁性流体用量在50 μ l 以上时, 释放速率维持平衡, 不再增加。(见图5、表2)

该方法测定快速简便, 不破坏试样。如采用气相或高效液相色谱, 由于细微磁粉的存在将影响色谱柱的使用寿命。

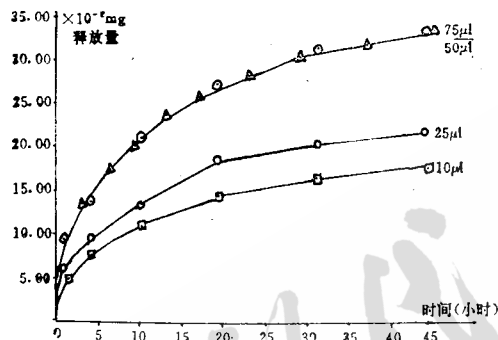


图5 磁性流体的用量对载药FMAM
药物释放速度的影响

参考文献

- 1 陈国璋等. 亚铁磁共振升温实验研究. 中国生物医学工程学报. 1992; 11(3)207—214
- 2 彭道兴等. 5-氟尿嘧啶微球的制备及其性能的探讨. 现代应用药学. 1992; 9(3)101—105
- 3 陈琪等. 磁性微球载体——抗癌药氟尿嘧啶新剂型. 中国药理学报. 1983; 4(4)273—276
- 4 陆明廉等. 氟离子电极法测定5-氟尿嘧啶的血浆

度. 上海第一医学院学报, 1980; 67(6)456

- 5 D. A. Shearer et al. Microdetermination of Fluorine in Organic Compounds With a Fluoride ion Electrode Following an Oxygen Flask Combustion, Microchem. J. 1970; 15; 199—204
- 6 M. Hawrylyshyn et al. Thin-layer determination of 5-FU, Microchem. J. 1984; 8; 15
- 7 Jordan L. et al. Assay for 5-Fu in biological fluids. J. Pharm. sci. 1973; 62(4) 573
- 8 Koppakav et al. GLC determination of 5-Fu, J. Pharm. sci. 1974; 63(8); 1328
- 9 Clarkson B. et al. The physiological disposition of 5-Fu and 5-Fluorode Oxyuridine in man Clin pharmacol ther. 1964; 5; 581
- 10 Coho JL. et al. High-performance liquid chromatographic analysis of 5-Fu in plasma. J. chromatogr. 1978; 151; 237

收稿日期: 1994-12-14

**Studies on Determination of the Drug Released in vitro from Magnetic
Microsphere Carrier and the Releasing Characteristics**

Wu A-fu, Peng Dao-xing, Wu Guang-hua, Huang Xin-xin, Chen Guo-zhang
(Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006)

Qi Wen-bin
(Zhejiang Hangzhou University, Hangzhou 310012)

Abstract We established a UV method to determine 5-fluorouracil(5-Fu) released in vitro from magnetic bovine serum albumin microsphere carrier. The determining accuracy can be effectively improved by preparing blank reference and controlling solution pH. This method had been applied to the study on releasing characteristics of 5-Fu.

Key words 5-fluorouracil, ultraviolet spectrophotometry, magnetic microsphere carrier

(on page 32)