

高效液相法测定聚丙烯交酯微球中醋酸地塞米松的含量

郑晓玲¹, 国强¹, 滕彦², 林季建² (1. 浙江大学附属妇产科医院, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江大学附属第二医院, 浙江 杭州 310006)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定醋酸地塞米松聚丙烯交酯微球含量测定。方法 采用 ODS 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈:25 mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液 (pH 3.0) (45:55, V/V), 检测波长:240 nm。结果 醋酸地塞米松在 5 ~ 30 μg·mL⁻¹ (r=0.9996, n=5) 浓度线性关系良好, 平均回收率为 95.55%, RSD=2.4%。结论 本方法操作简便、快速、准确, 能很好地定量测定醋酸地塞米松聚丙烯交酯微球的含量。

关键词:醋酸地塞米松; 高效液相色谱法; 聚丙烯交酯; 含量测定

中图分类号: R917.798.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)04-0311-02

Quantitative determination of dexamethasone acetate-loaded poly (D, L-lactide) microspheres

ZHENG Xiao-ling¹, GUO Qiang¹, TENG Yan², LIN Ji-jian² (1. Gynaecological Hospital, Medical college, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China; 2. The Second affiliated Hospital of Medical College, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of dexamethasone acetate-loaded poly (D, L-lactide) microspheres. **METHOD** The HPLC method with Hypersil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase of acetonitrile-phosphate buffer (pH 3.0) (45:55, v/v), the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength of 240 nm and the oven temperature of 30°C were used. **RESULTS** The range of linear relationship for dexamethasone acetate-loaded poly (D, L-lactide) microspheres was 5 ~ 30 μg·mL⁻¹ (r=0.9996, n=5). The average recovery of the method was 95.55% and the RSD was 2.4%. **CONCLUSION** This method can be applied to determination of dexamethasone acetate-loaded poly (D, L-lactide) microspheres.

KEY WORDS dexamethasone; HPLC; polylactide; determination

聚丙烯交酯 (polylactide, PLGA) 为可生物降解的高分子材料, 于体内可发生降解, 以其为材料制成的含药微球注射剂于体内释药超过 1 个月^[1]。于二氯甲烷、三氯甲烷、二甲基甲酰胺、乙腈中溶解, 不溶于醇、酮、醚等有机溶剂。聚丙烯交酯微球的含量测定时常采用的方法有: ①用对 PL 不溶性有机溶剂直接从微球中萃取^[2]; ②用 PL 可溶性有机溶剂溶解微球, 再用与该溶剂不相混溶的溶剂萃取, 如水相萃取^[3]; ③用溶剂溶解 PL 及药物, 然后用 PL 不溶性溶剂沉淀 PL, 过滤或离心后测定^[4]; ④用混合溶剂溶解药物及 PL 后直接测定。

①法萃取所需时间长, 且有时萃取效率不高; ②③操作均较烦琐, 且③法产生的微小 PL 颗粒不容易离心沉淀, 故溶液带乳光影响测定; ④法中 PL 及药物共溶于混合溶剂中, 但 PL 在低紫外波长处有一定的吸收, 会干扰测定, 若采用 HPLC 法就可以消除这些顾虑。采用溶剂挥发法制备了醋酸地塞米松聚丙烯交酯微球 (DA-PL-MS) 用于治疗增殖性玻璃体视网膜病变, 采用 HPLC 法测定微球中药物的含量, 方法简便、快捷。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

醋酸地塞米松对照品(浙江仙琚制药厂),醋酸地塞米松聚丙交酯微球(自制)。乙腈为色谱纯,水为去离子水,流动相使用前用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil C₁₈ 柱(4.6cm × 15cm, 5 μ m); 流动相: 乙腈: 25mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 3.0)(45:55, V/V); 流速: 1.0mL·min⁻¹; 检测波长: 240nm; 柱温: 30℃。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取地塞米松对照品 25.0mg, 用乙腈配成 0.25mg·mL⁻¹溶液(S)。

2.3 标准曲线的制备

精密移取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0mL S液, 用流动相稀释, 配置成一系列浓度的对照品溶液, 取 20 μ L 溶液注入液相色谱仪, 记录峰面积。以峰面积 A 对药物浓度 C(μ g·mL⁻¹) 进行线性回归, 得回归方程 $C = 0.024A + 0.0729$ ($r = 0.9996$, 线性范围为 5 ~ 30 μ g·mL⁻¹)。

2.4 加样回收率实验

精密量取 S液一定体积各四份, 置 50mL 量瓶中, 分别加入 4mL 的 B液, 用流动相稀释至刻度^[5]。取 20 μ L 溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积计算, 得回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果 ($n = 4$)

Tab 1 Results of the recovery test ($n = 4$)

加入量 (mg)	回收率 (%)				平均 (%) \pm SD	RSD (%)
	1	2	3	4		
0.125	94.26	95.89	92.53	90.22	93.23 \pm 2.43	2.60
0.250	98.23	99.29	104.3	97.41	99.81 \pm 3.09	3.09
0.500	92.92	92.76	93.57	95.16	93.60 \pm 1.41	1.50

2.5 精密度试验

取醋酸地塞米松对照品 3.0mL 置于 50mL 量瓶中, 以流动相稀释至刻度。重复进样 5 次, 记录峰面积, 计算得 RSD = 2.01% ($n = 5$)。

2.6 重复性试验

取同一批号的 DA-PL-MS(批号 0304251), 精密称定 5 份, 按样品测定项下的方法分别进行样品溶液的制备、测定, 测得醋酸地塞米松平均含量为 77.59%, 结果 RSD 为 2.29% ($n = 5$)。

2.7 样品测定

精密称取微球 30.0mg, 置 10mL 量瓶中, 加乙腈溶解并定容, 过滤, 移取续滤液 1.0mL 置 50mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 得到样品溶液(B)。取 20 μ L 溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图。测定结果见表 2。

表 2 醋酸地塞米松聚丙交酯微球含量测定结果 (% , $n = 3$)

Tab 2 Determination results of DA-PL-MS

批号	1	2	3	平均含量 (%)	RSD (%)
0304171	79.64	82.55	78.56	80.25	2.57
0304251	76.59	79.64	76.54	77.59	2.30
0304252	81.30	76.58	78.16	78.68	4.31

3 讨论

在试验中分别选用乙腈-水 = 45:55, 乙腈-水 = 50:50, 乙腈-水 = 55:45, 乙腈-25mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 3.0) = 45:55 作为流动相^[6]。用流动相溶解 DA-PL-MS 和用同样方法制备的空白微球, 在 200 ~ 400nm 范围进行紫外扫描, 经紫外扫描发现地塞米松在 240nm 处有最大吸收^[5], PLGA 在此处无紫外吸收。分别取醋酸地塞米松标准品溶液, PLGA 空白微球溶液 20 μ L 进样, 发现用乙腈-25mmol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 3.0) = 45:55 作为流动相, 可以得到较好的结果, 见图 1, 峰 1 为醋酸地塞米松。

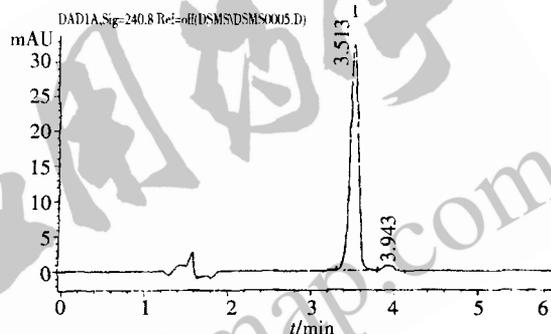


图 1 醋酸地塞米松的色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of dexamethasone

参考文献

- [1] Beck LR, Cowsar DR, Lewis DH, *et al.* A new long-acting injectable microcapsule system for the administration of progesterone [J]. *Fertil Steril*, 1979, 31(5): 545.
- [2] Suzuki K, Price JC. Microencapsulation and dissolution properties of a neuroleptic in a biodegradable polymer, poly(*d, l*-lactide) [J]. *Pharm Sci*, 1985, 72(1): 21.
- [3] Okada H, Yamamoto M, Heya T, *et al.* Drug delivery using biodegradable micropheres [J]. *J Controlled Release*, 1994, 28: 12.
- [4] Aso Y, Yoshioka S, Po ALW, *et al.* Effect of temperature on mechanisms of drug release and matrix degradation of poly(*d, l*-lactide) microspheres [J]. *J Controlled Release*, 1994, 31: 33.
- [5] 陆彬, 吴伟. 一阶导数光谱法测定聚丙交酯微球中 5-氟尿嘧啶或醋酸地塞米松的含量 [J]. *中国药师*, 1999, 2(2): 57.
- [6] 袁建平, 李文德. HPLC 法测定眼药水中的地塞米松磷酸钠及分解产物 [J]. *现代应用药学*, 1995, 12(3): 35.

收稿日期: 2004-06-16