

紫外分光光度法测定阿霉素聚乳酸微球的含量^①

吴景梅^② 邵燕芳 秦英月

(蚌埠学院应用化学与环境工程系 安徽省蚌埠市曹山路 1866 号 233030)

摘要 采用复乳-溶剂挥发法制备阿霉素聚乳酸微球, 通过扫描电镜观察微球的形态, 采用紫外分光光度法测定微球中阿霉素的含量。结果表明, 所制备的阿霉素聚乳酸微球外形圆整, 阿霉素溶液在 1.70—34.1 μg/mL 浓度范围内线性良好, 校准曲线回归方程为 $A = 0.0422C + 0.1845$, 相关系数 r 为 0.9997, 平均回收率为 99.5% (RSD= 0.50%)。

关键词 乳化溶剂挥发法; 阿霉素; 聚乳酸微球; 紫外分光光度法

中图分类号: O657.32 文献标识码: B 文章编号: 1004-8138(2011)04-1940-03

1 引言

阿霉素(Adriamycin, ADM) 属蒽环类抗生素, 是当今公认的强效广谱抗癌药物, 具有较强的细胞毒性作用, 临床上广泛应用于白血病和各种恶性肿瘤的治疗^[1], 但该药具有较强的心脏毒性及骨髓抑制作用, 在一定程度上限制了其临床应用。如将阿霉素制备成具有缓释作用的微球制剂, 理论上可减轻阿霉素对机体的心脏毒性及骨髓抑制作用, 提高化疗效果^[2]。生物可降解材料聚乳酸(Polylactide, PLA) 因其优良的生物相容性及生物可降解性, 被广泛地用于药物缓/控释系统^[3]。本文采用复乳-溶剂挥发法^[4] 制备了阿霉素聚乳酸微球, 考察了微球的形态, 并用紫外分光光度法测定了载药微球中阿霉素的含量。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

聚乳酸(PLA, 分子量 30000, 济南岱罡生物科技有限公司); 阿霉素(浙江海正药业有限公司, 国药准字: H33021980); 明胶、Tween-60、二氯甲烷均为分析纯; 0.9% 生理盐水。实验用水为去离子水。

FA 2004 型电子天平(上海舜宇恒平公司); 79-1 型恒温磁力搅拌器(金坛中大仪器厂); UV 1102 型紫外分光光度仪(上海天美公司); 0406-1 型离心沉淀器(上海医疗器械集团公司); S-450 扫描电子显微镜(日本日立公司)。

2.2 实验方法

将 0.5g 聚乳酸溶解于 5mL 二氯甲烷中, 加入 1mL 5mg/mL 阿霉素水溶液, 高速搅拌 10min 得到初乳液, 室温下倒入含 0.15% Tween-60 的 1% 明胶溶液 100mL 中, 高速搅拌乳化 20min 得复

① 安徽省优秀人才基金项目(No: 2008jwq1159)

② 联系人, 手机: (0) 15855762656; E-mail: wujingmei@126.com

作者简介: 吴景梅(1974—), 女, 山东省菏泽市人, 讲师, 硕士, 主要从事生物医用降解材料研究工作。

收稿日期: 2011-03-24; 接受日期: 2011-04-16

乳液, 然后低速搅拌 3h 使二氯甲烷挥发完全, 于 1500r/min 转速下离心分离 3min, 收集微球, 用蒸馏水冲洗, 常温干燥得粉末状桔红色固体微球。用扫描电镜分析微球形态, 用紫外分光光度法测定微球中阿霉素的含量。

3 结果与讨论

3.1 微球的形态及表面特性

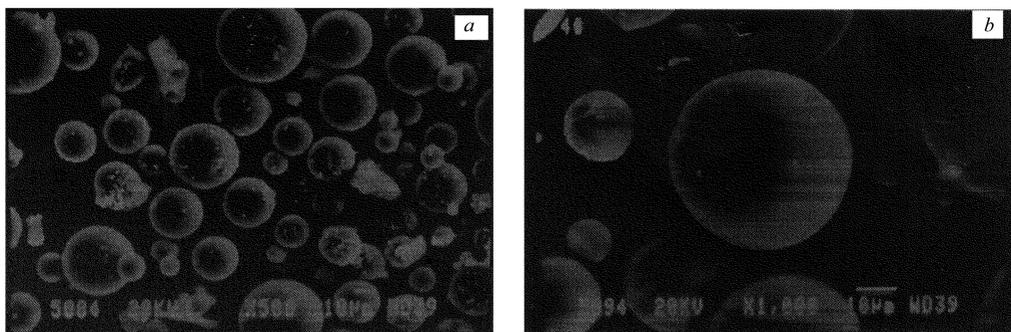


图 1 阿霉素聚乳酸微球的扫描电镜[$a(\times 500)$, $b(\times 1000)$]

从图 1 可以看出, 阿霉素聚乳酸微球呈球形, 有少量空白微球, 可能是搅拌速度过快所致。微球表面粗糙, 有较小的凹凸现象, 这可能是溶剂挥发过程所致, 这也将成为内部药物与外相溶液自由“交换”的通道。并且由于聚乳酸的玻璃化转变温度较低, 熔点较低, 微球在局部放大时, 由于真空条件下电子束能量很容易使微球变形^[5], 所以对于聚乳酸微球放大倍数一般不要超过 5000 倍, 以防止聚合物的融化变形。在药物释放过程中, 除了随着聚乳酸的降解药物释放以外, 这些小的凹凸也有助于药物分子从微球本体逃逸到体液中。

3.2 测定波长的选择

以阿霉素原药制剂为对照品, 取阿霉素对照品的生理盐水溶液 ($6.82\mu\text{g}/\text{mL}$), 以生理盐水为空白, 在 200—400nm 波长范围内作紫外扫描, 阿霉素在波长 232.5nm 处有最大吸收, 故选定 232.5nm 为测定波长。

3.3 校准曲线的绘制

准确称取干燥恒重的阿霉素对照品 3.41mg 置于小烧杯中, 加 20mL 生理盐水溶解后转入 100mL 容量瓶中, 用生理盐水稀释定容, 配制浓度为 $34.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准液。分别取 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、10.0mL 标准溶液, 以生理盐水定容至 10mL, 配成系列浓度。在 232.5nm 波长处以生理盐水为空白, 测定吸光度值 (A), 绘制校准曲线 (图 2), 并计算得回归方程 $A = 0.0422C + 0.1845$ ($r = 0.9997$, $n = 8$), 线性范围为 1.70— $34.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

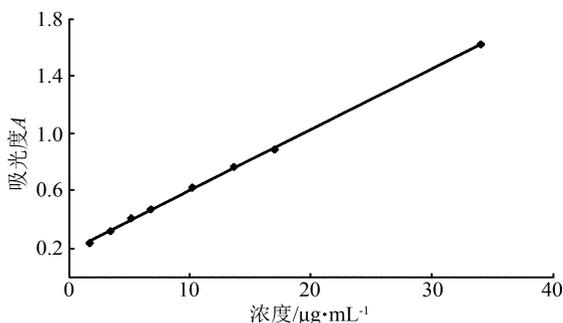


图 2 阿霉素浓度与吸光度的关系曲线

3.4 稳定性实验

取浓度为 $6.82\mu\text{g}/\text{mL}$ 的阿霉素对照品生理盐水溶液, 室温下避光放置, 分别于 0、1、2、3、4、5h 测其吸光度值, 结果几乎没有变化, 说明 5h 内含量测定结果的稳定性良好。

3.5 回收率实验

取阿霉素含量为 $5.96\mu\text{g}/\text{mL}$ 的阿霉素聚乳酸微球样品溶液 3 份, 分别准确加入浓度为 8.52 、 17.05 、 $25.58\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液, 测定吸光度, 根据校准曲线(图 2), 计算实测结果, 根据回收率 = $100\% \cdot (\text{测得量} - \text{样品原含量}) / \text{加标量}$ 计算回收率, 结果见表 1。3 种浓度的阿霉素溶液的平均回收率为 99.5% , 相对平均偏差 RSD 为 0.50% 。

表 1 阿霉素的回收率实验

($n=3$)

样品原含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加标量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	测得量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对偏差 (%)	相对平均偏差 (%)
5.96	8.52	14.38	98.8		0.70	
5.96	17.05	23.04	100.2	99.5	0.70	0.50
5.96	25.58	31.38	99.4		0.10	

3.6 阿霉素聚乳酸微球中阿霉素含量的测定

称取阿霉素聚乳酸微球样品 3 份分别置于带塞具的刻度试管中, 加入二氯甲烷溶解聚乳酸, 再加入生理盐水振荡 30min, 取水层在波长 232.5nm 处测吸光度, 代入回归方程, 计算得微球中阿霉素含量平均值为 $6.53\mu\text{g}/\text{mg}$ 。

4 结论

采用复乳-溶剂挥发法制备了阿霉素聚乳酸微球, 扫描电镜分析表明所制得的微球外形圆整。利用紫外分光光度法测定微球中阿霉素的含量, 突出优点是操作简单易行, 回收率符合要求, 重现性好, 尤其适应微球研制初期反复大量地进行含量测定的需要, 具有很高的实用价值, 亦适用于其它水溶性药物聚乳酸微球的载药量的测定。

参考文献

- [1] Dos Santos R A, Takahashi C S. Anticlastogenic and Antigenotoxic Effects of Selenomethionine on Doxorubicin-Induced Damage in Vitro in Human Lymphocytes[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, **46**(2): 671—677.
- [2] 林本兰, 沈晓东, 崔升. 磁性纳米粒阿霉素微球制备的初探[J]. *中国医院药学杂志*, 2005, **25**(5): 424—426.
- [3] 杨帆, 陈一岳, 林茵. 聚乳酸的降解性能及其微球剂的研究[J]. *中国药房*, 2002, **13**(5): 263—265.
- [4] 饶骏, 陶霞, 陈建峰. 阿霉素微胶囊的制备与表征[J]. *北京化工大学学报*, 2008, **35**(4): 69—72.
- [5] Zhang Y W, Jiang M, Zhao J X *et al.* Hollow Spheres from Shell Cross-Linked, Noncovalently Connected Micelle of Carboxyl-Terminated Polybutadiene and Poly(Vinyl Alcohol) in Water[J]. *Macromolecules*, 2004, **37**(4): 1537—1543.

Determination of Adriamycin in Polylactic Acid Microballoon by Ultraviolet Spectrophotometry

WU Jing-Mei TAI Yan-Fang QIN Ying-Yue

(Department of Applied Chemistry and Environmental Engineering, Bengbu College, Bengbu, Anhui 233030, P. R. China)

Abstract Adriamycin polylactic acid microballoon was prepared with double emulsion-solvent evaporation technique, and the shape of the microballoon characterized by scanning electron microscopy (SEM). The concentration of adriamycin in the microballoon was analyzed by ultraviolet spectrophotometry. The results showed that the microballoon had smooth spherical surfaces. The linearity of adriamycin was better in the range of 1.70 to $34.1\mu\text{g}/\text{mL}$, $A = 0.0422C + 0.1845$, $r = 0.9997$. The average recovery was 99.5% (RSD = 0.50%).

Key words Emulsion-Solvent Evaporation Technique; Adriamycin; Polylactic Acid Microballoon; Ultraviolet Spectrophotometry