

## 地塞米松脂质体质量控制方面的研究

郑永红<sup>1</sup>, 全东琴<sup>2</sup>(1. 国家生物医学分析中心, 北京 100850; 2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

**摘要:** 目的: 地塞米松脂质体是本院研究的新剂型, 本文从质量控制的主要方面, 对其进行了研究。方法: 通过负染法, 观察在透射电子显微镜下的形态; 采用紫外系数倍率法测定地塞米松的含量; 用 MACROSEP 首次测定了包封率。结果: 地塞米松脂质体属于胶体分散系范围, 符合质量控制的要求; 在 4~ 52 $\mu$ g/ml 浓度范围内线性关系良好, 回收率在 98.28%~ 99.71% 之间; 包封率均在 80% 以上, 包封效果良好。结论: 本文方法具有准确、快速、重现性好等特点, 便于药厂和医院的快检。

**关键词:** 地塞米松; 脂质体; 系数倍率法; 包封率

中图分类号: TQ460.7<sup>+</sup> 2; O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0111(2001)02- 0086- 03

## Studies on quality control of dexamethasone liposomes

ZHENG Yong-hong<sup>1</sup>, QUAN Dong-qin<sup>2</sup> (1. National Center of Biomedical Analysis, Beijing 100850, China; 2. Institute of Pharmacology and Toxicology of AMMS, Beijing 100850, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE:** To study the main aspects of quality control of dexamethasone liposomes. **METHODS:** The structure of liposomes was studied with negative staining method of TEM. K- ratio spectrophotometry was used to determine the content, and the Macrosep was used to separate the entrapped from free drugs. **RESULTS:** An excellent linear relationship was obtained with the range of 4~ 52 $\mu$ g/ml, the average recovery percent was between 98.28%~ 99.71%. The entrapment efficiency was one of the important parameters of liposomes quality control. It was related with the clinical effect directly, the entrapment efficiency was more than 80%. **CONCLUSION:** This method is accurate, quick and reproducible.

**KEY WORDS:** dexamethasone; liposome; k-ratio spectrophotometry; entrapment efficiency

脂质体(liposome)是一种类似微型胶囊的新剂型, 它能将药物包封于类脂质双分子形成的超微型球状载体内, 通过渗透或被巨噬细胞吞噬后释放药物, 从而发挥作用<sup>[1]</sup>。近年的研究表明, 脂质体作为药物载体有多方面的特点, 特别是在提高药物对靶器官的选择性、降低毒性、提高治疗指数方面, 已引起人们的高度重视<sup>[2]</sup>。地塞米松脂质体是本院开发的新剂型, 本文对其质量控制的主要方面进行了研究。

### 1 仪器与试剂

Philips 400T 型透射电子显微镜(荷兰 PHILIP 公司), HP8453 型紫外可见分光光度仪(美国 HP 公司), PE LC235/200 型高效液相色谱仪(美国 PE 公司), LG10- 2.4A 型医用离心机(北京医疗器械厂), Macrosep 离心超滤器(美国 Pall Filtm 公司)

地塞米松脂质体(本院制备, 批号 000601~ 000603), 地塞米松对照品(上海第十二制药厂, 批号

990317), 空白脂质体(本院制备, 批号 000106), 甲醇、乙醇(均为色谱纯)。

### 2 方法和结果

#### 2.1 脂质体的形态

取数滴地塞米松脂质体, 用负染法<sup>[3]</sup>染色, 在透射电子显微镜下观察到的形态说明: 地塞米松脂质体主要由单室脂质体和少量的多室脂质体组成(分别从放大 36000 和 100000 倍的底片上观察到), 粒径大小较均匀, 粒径值 < 0.5 $\mu$ m, 属于胶体分散系, 符合脂质体质量控制的要求<sup>[4,5]</sup>。

#### 2.2 含量测定

**2.2.1 实验条件的选择** 取经 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的地塞米松对照品与空白脂质体适量, 分别用乙醇溶解稀释至一定浓度, 在 200~ 350nm 波长范围内扫描的吸收光谱见图 1。由此可知: 在 200~ 260nm 之间, 地塞米松和空白脂质体都有紫外吸收, 相互干扰, 故采用系数倍率法测定以消除干扰。根据波长

对选择原则, 考虑地塞米松在  $\lambda_1 = 239\text{nm}$  处有最大吸收, 而空白脂质体在此波长处吸收度相对较小, 因此  $239\text{nm}$  可作为测定波长, 空白脂质体在  $\lambda_2 = 219\text{nm}$

处为一峰谷, 可作为参比波长, 这样能够得到较准确的倍率系数。

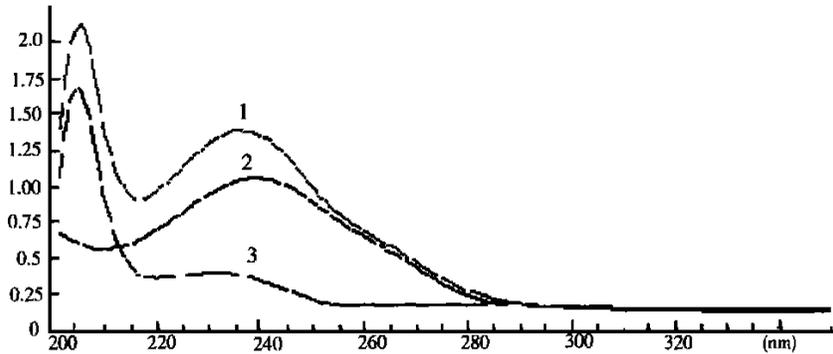


图 1 紫外吸收光谱

1- 地塞米松脂质体 2- 地塞米松对照品 3- 空白脂质体

**2.2.2 倍率系数的测定** 精密吸取空白脂质体 1ml, 用乙醇稀释成 6 种不同浓度 (20~70 $\mu\text{l/ml}$ ) 溶液, 以乙醇为空白, 在  $\lambda_1$ 、 $\lambda_2$  波长处分别测定吸收度  $A_1$ 、 $A_2$ , 按吸收倍率系数  $K = A_1 / A_2$ , 计算  $K$  值, 结果平均值  $K = 0.9378$ ,  $RSD = 0.31\%$  ( $n = 6$ ), 说明  $K$  值不随浓度变化而发生变化, 即  $K$  值与空白脂质体的浓度无关。

于 10.4mg), 置 10ml 量瓶中, 照回收率实验项下方法测定。按标示量计算, 并与高效液相色谱法 (外标法) 测出的百分含量相比较, 结果表明, 本法测定结果与高效液相色谱法基本一致, 见表 2。

表 2 样品含量测定结果 (标示量%,  $n = 6$ )

批号	HPLC法	RSD (%)	本法	RSD (%)
000601	97.37	1.15	97.80	1.86
000602	100.77	2.32	101.15	2.40
000603	99.61	2.21	99.74	1.74

经统计学检验<sup>[6]</sup>, 两法无显著性差异 ( $P < 0.05$ )

**2.2.3 标准曲线的绘制** 精密称取地塞米松对照品约 4mg, 置 10ml 量瓶中, 按处方比例加入空白脂质体, 用乙醇溶解并定容, 摇匀。再分别精密吸取 0.1、0.2、0.4、0.6、1、1.3ml 置各 10ml 量瓶中, 加乙醇定容。以乙醇为空白, 在  $\lambda_1$ 、 $\lambda_2$  处分别测定吸收度, 按  $\Delta A = A_{\lambda_1} - K \cdot A_{\lambda_2}$ , 计算  $\Delta A$  值。 $\Delta A$  值仅与被测组分—地塞米松的浓度有关, 把  $\Delta A$  值与相应的浓度  $C$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) 进行回归, 可知在 4~52 $\mu\text{g/ml}$  浓度范围内线性关系良好, 回归方程为  $\Delta A = 0.01036C - 0.00297$ ,  $r = 0.99989$ 。

**2.2.6 方法的稳定性** 将上述供试品溶液密闭避光放置, 分别于 1、2、3、4h 测定吸收度, 结果表明  $\Delta A$  值基本无变化。

**2.3 稳定性的初步考察**

**2.2.4 回收率实验** 在空白脂质体中加入一定量的地塞米松对照品, 配制成低、中、高 3 种浓度的地塞米松脂质体溶液, 分别置于 100ml 量瓶中, 用乙醇溶解并定容, 摇匀。以乙醇为空白, 在  $\lambda_1$ 、 $\lambda_2$  波长处分别测定其吸收度  $A_1$ 、 $A_2$ , 按  $\Delta A = A_{\lambda_1} - K \cdot A_{\lambda_2}$  计算  $\Delta A$  值, 并代入上述回归方程求出浓度  $C$ , 计算回收率。

**2.3.1 光照射稳定性** 取供试品 1ml 封于安瓿中, 以光线强度 4000lx 连续照射 10d, 分别在 5d, 10d 时取样, 按含量测定方法测定, 结果平均回收率为 66.64%,  $RSD = 2.60\%$ ; 49.46%,  $RSD = 3.29\%$  ( $n = 4$ ), 说明本品对光不稳定, 应密闭避光贮存。

**2.3.2 热稳定性** 采用恒温加速实验法, 40 $^{\circ}\text{C}$  放置 3mo 后, 测定含量大于 95%, 说明本品对热较稳定。

**2.4 包封率测定**

表 1 回收率及精密度测定结果 ( $n = 5$ )

投入量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	测得量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	平均回收率 (%)	RSD (%)
6.489	6.381	98.28	7.63
20.714	20.585	99.36	1.88
50.003	49.867	99.71	0.65

**2.4.1 方法** 脂质体作为药物载体, 将包封于其中的药物量与药物总量之比称为包封率, 它是影响脂质体临床应用的关键因素。因此包封率测定是脂质体质量控制中的一项重要内容, 本文将 Macrosep<sup>[7]</sup> 离心超滤器首次用于包封率的测定。

**2.4.2 结果** 取 10ml 供试品, 放入 Macrosep 离心超滤器中, 转速 5000r/min, 离心 8min 后, 取出 1ml 滤液, 用乙醇稀释定容至 100ml 量瓶中, 按含量测定方

**2.2.5 样品测定** 精密吸取供试品 0.1ml (约相当

法测定, 计算包封药物量  $C_{\text{包封}}$ ,  $C_{\text{总}}$  为上述样品测定项结果。按包封率 =  $C_{\text{包封}}/C_{\text{总}}$  计算, 结果均在 80% 以上, 符合脂质体质量控制的要求<sup>[4]</sup>, 见表 3。

表 3 包封率测定结果 ( $n = 6$ )

批号	$C_{\text{包封}}$ (mg)	$C_{\text{总}}$ (mg)	包封率%	RSD %
000601	32.67	39.24	83.24	5.7
000602	34.55	40.59	85.10	3.9
000603	32.64	39.91	81.85	8.2

### 3 结论

**3.1** 本文建立的系数倍率法测定地塞米松脂质体中地塞米松含量的方法, 无需样品预处理, 可直接测定, 并且能够消除脂质体本底的吸收干扰, 方法简便、快速、经济, 对比实验表明, 其测定准确度同 HPLC 法, 适合于医院和药厂制剂的快检。

**3.2** 若仪器和测定条件不同,  $K$  值应另行校测, 以免造成误差。另外, 本文测定波长的选择比双波长等吸收点容易找到较佳的实验条件, 易得到较大的  $\Delta$  值和接近 1 的  $K$  值, 由于求得的  $K$  及  $\Delta$  值来自混合液, 对吸收度加和性较好和较差的体系, 都能获得较高的精度。

**3.3** 文献报道测定包封率的方法有凝胶过滤法、超速离心法、透析法等<sup>[2, 5]</sup>, 但这几种方法仪器要求条件高、繁琐, 本文使用 Macrosep 离心超滤器测定包封

率, 方法较方便、快速, 且重现性好, 更适于生产中进行质量控制。

**3.4** 脂质体中药物包封率是受多种因素影响的, 如脂质体的类型、使用的膜材和制备工艺等, 以大的单室脂质体和多室脂质体的包封率较高。按文献报道: 包封率一般为 40% ~ 60%<sup>[2]</sup>, 而本文研究的地塞米松脂质体的包封率在 80% 以上, 说明其膜材大大提高对药物的包封效果。

### 参考文献:

- [1] Deng YJ, Xu F, Jin YG, et al. Preparation, stability and immunoenhancement of APS liposomes [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 1996, 5(2): 93.
- [2] Szoka JR. The future of liposome drug delivery [J]. Biotechnol & Applied Biochem, 1996, 12: 496.
- [3] 应国华. 电镜技术与细胞超微结构 [M]. 香港: 香港现代出版社, 1992. 55~ 58.
- [4] 顾学裘. 中国多相脂质体研究 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1991. 12~ 17.
- [5] Danilo D. L. Doxorubicin in sterically stabilized liposomes [J]. Nature, 1996, 4(11): 561.
- [6] 马剑文. 现代药品检验学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1994. 214~ 219.
- [7] Henderson M, Stom G, Steerenberg PA, et al. Efficient purification of PCR products using ultrafiltration [J]. Biotechniques, 1992, 13(2): 286.

收稿日期: 2000- 07- 03

## • 药物不良反应 •

### 甲硝唑治疗牙髓炎引起咽喉过敏 2 例

潘庆友, 李宏刚 (解放军第 408 医院, 秦皇岛 066000)

关键词: 甲硝唑; 牙髓炎; 过敏

中图分类号: R978. 61 文献标识码: D 文章编号: 1006- 0111(2001)02- 0088- 01

#### 1 临床资料

例 1: 患者女, 15a。因患牙髓炎于 1999 年 12 月 10 日来院就诊, 经口腔科检查确诊为牙髓炎, 牙周已形成脓肿。首次给予青霉素 640 万单位加生理盐水 250ml, iv gtt, 及 5% 甲硝唑葡萄糖注射液 250ml (内蒙古甘齐卡制药厂, 批号 990706) iv gtt。滴速为 20~ 35gtt/min, 当输入甲硝唑 1/3 时, 患者感到咽喉部发痒发干, 并发现咽部红肿, 憋气, 呼吸困难等症状, 随着药液的不断滴入, 上述症状加重, 停止输入后观察半小时, 症状有所减轻。第 2 次只用青霉素静脉点滴上述反应未再发生。

例 2: 患者男, 45a。因牙根部脓肿伴严重感染, 于 2000 年 1 月 8 日来院就诊, 经口腔科确诊后, 给

予 5% 甲硝唑葡萄糖注射液 250ml (生产厂家同上, 批号 990717) iv gtt, 口服红霉素, 牙周宁常规剂量。当第 2 次 iv gtt 时出现例 1 同样的反应, 停止输入后患者感觉上述症状减轻。改用环丙沙星 iv gtt 病人无不良反应。

#### 2 讨论

2 例患者使用同一生产厂家的 5% 甲硝唑葡萄糖注射液, 均引起咽喉部过敏反应, 停用后过敏反应症状消失。经笔者查阅资料未见 5% 甲硝唑葡萄糖注射液致咽喉部过敏反应的报道。故应当属于个体差异性反应, 提醒临床医生在应用此药治疗时应加强观察和重视。

收稿日期: 2000- 09- 20