

UV法或HPLC法结合金属离子沉淀法测定米索硝唑pH敏感脂质体中主成分含量的比较^Δ

魏巍^{1,2*},何美³,王琛¹,李睿⁴,李必波^{1#},罗治彬^{1,2}(1.重庆市人民医院肿瘤血液科,重庆 400014;2.西南医科大学附属医院肿瘤科,四川泸州 646000;3.重庆市肿瘤研究所肿瘤防治办公室,重庆 400030;4.重庆药友制药有限责任公司,重庆 401121)

中图分类号 R944;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)24-3321-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.24.03

摘要 目的:建立测定米索硝唑pH敏感脂质体中主成分含量的方法。方法:采用金属离子沉淀法(以ZnCl₂为金属离子沉淀剂)预处理除去米索硝唑pH敏感脂质体中的辅料磷脂酰乙醇胺;采用紫外分光光度法(UV)测定其中主成分的含量(检测波长为322 nm),并将测定结果与高效液相色谱法(HPLC)进行比较[色谱柱为Hypersil C₁₈,流动相为甲醇-水(20:80, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为322 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μL]。结果:两种方法检测米索硝唑的质量浓度线性范围分别为0.96~30.72 μg/mL($r=0.999\ 6$)、0.48~4.80 μg/mL($r=0.999\ 5$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2%;回收率分别为97.23%~102.33%(RSD=1.05%, $n=9$)、97.35%~99.75%(RSD=1.15%, $n=9$);含量测定结果分别为99.86%、100.16%、100.32%和99.95%、99.98%、100.05%。结论:UV法结合金属离子沉淀法操作简便、准确,精密度、稳定性、重复性好,可用于米索硝唑pH敏感脂质体中主成分的含量测定,其结果与HPLC法含量测定结果一致。

关键词 米索硝唑;pH敏感脂质体;紫外分光光度法;高效液相色谱法;金属离子沉淀法;含量测定

Comparison of Main Components Determination in Misonidazole pH-sensitive Liposome by UV or HPLC Combined with Metal Ion Precipitation Method

WEI Wei^{1,2}, HE Mei³, WANG Chen¹, LI Rui⁴, LI Bibo¹, LUO Zhibin^{1,2}(1. Dept. of Oncology and Hematology, Chongqing People's Hospital, Chongqing 400014, China; 2. Dept. of Oncology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Sichuan Luzhou 646000, China; 3. Office of Cancer Prevention and Control, Chongqing Cancer Institute, Chongqing 400030, China; 4. Chongqing Yaopharma Co., Ltd., Chongqing 400021, China)

参考文献

- [1] JOHNSON CN. The benefits of PDCA[J]. *Quality Progress*, 2002, 35(5):120.
- [2] 董恒进,曹建文. 医院管理学[M]. 2版. 上海:复旦大学出版社,2004:109-111.
- [3] 张永,卢智,郭丹. PDCA循环管理方法应用于我院三级综合医院复审过程中药事管理的体会[J]. *中国药房*, 2016, 27(10):1305-1307.
- [4] 隋继英,窦明金,陈金娜,等. PDCA循环法用于住院药房药品调剂风险管理的实践[J]. *中国药事*, 2016, 30(3):246-251.
- [5] 李义. PDCA循环法在药房管理中的应用价值[J]. *中国当代医药*, 2013, 20(35):142-143.

- [6] 张红梅,肖丽,朱淑华,等. PDCA管理法在降低我院住院药房退药率中的应用[J]. *实用药物与临床*, 2015, 18(8):1003-1007.
- [7] 郑利光,施祖东,赵电红,等. 实施PDCA循环管理前后医院辅助用药应用分析及管理效果探讨[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2018, 18(5):687-690.
- [8] PANKAJA PK. Effective of Gantt chart for managing large scale projects[J]. *Cost Engineering*, 2005, 47(7):14-22.
- [9] 黄娟,李旭,王平,等. 质量管理工具在我院药品不良反应报告中的应用与体会[J]. *中国药房*, 2015, 26(8):85-88.
- [10] 张美玲,叶佐武,夏仲尼. PDCA循环在优化医院病区药房口服药调剂流程中的应用[J]. *医药导报*, 2014, 33(4):544-546.
- [11] 郑造乾,黄萍,袁雍,等. PDCA循环在医院处方持续质量改进中的应用[J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(1):79-84.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81502669)

* 硕士研究生. 研究方向:放疗增敏剂. E-mail:643952295@qq.com

通信作者:主治医师,博士. 研究方向:放疗增敏剂. E-mail:libibo198525@163.com

(收稿日期:2018-05-08 修回日期:2018-10-21)

(编辑:段思怡)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of main components in Misonidazole pH-sensitive liposome. METHODS: The phosphatidylethanolamine in Misonidazole pH-sensitive liposomes was removed by metal ion precipitation method (using $ZnCl_2$ as the metal ion precipitating agent). The content of main components was determined by UV spectrometry (at the wavelength of 322 nm), and then compared with the results of HPLC method [Hypersil C_{18} , mobile phase consisted of methanol-water (20:80, V/V), flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength of 322 nm, column temperature of 30 °C, sample size of 20 μ L]. RESULTS: The linear range of misonidazole were 0.96-30.72 μ g/mL ($r=0.999\ 6$) and 0.48-4.80 μ g/mL ($r=0.999\ 5$) by two methods. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The recovery rates were 97.23%-102.33% (RSD=1.05%, $n=9$) and 97.35%-99.75% (RSD=1.15%, $n=9$). The contents were 99.86%, 100.16%, 100.32% and 99.95%, 99.98%, 100.05%. CONCLUSIONS: UV method combined with metal ion precipitation method is simple, accurate, species, stable, and reproducible. It can be used for the determination of misonidazole content in misonidazole pH-sensitive liposome. The result is in agreement with those determined by HPLC.

KEYWORDS Misonidazole; pH-sensitive liposome; UV spectrometry; HPLC; Metal ion precipitation method; Content determination

米索硝唑是一种具有较高放射增敏比的乏氧细胞放射增敏剂,其放射增敏比为1.5^[1],最高可增至1.8~2.0^[2],常用于头颈部鳞状细胞癌的放疗增敏。但因其水溶性低、油水分配系数高导致其不良反应发生率高,主要为外周神经系统毒性(发生率为15%~28%),故而限制了其临床应用^[3-4]。为此,本课题组将米索硝唑包裹于pH敏感脂质体中制成米索硝唑pH敏感脂质体,以此来克服药物的外周神经毒性,并使其具有肿瘤靶向性^[5-8]。

药物含量测定是制剂质量控制中非常重要的项目。既往米索硝唑相关检测均采用高效液相色谱法(HPLC)测定原药或其代谢产物^[9-10],该法准确、可靠,但对仪器的要求较高,且测定过程烦琐、耗时、耗材。相比之下,紫外分光光度法(UV)操作简单、费用更低,且在一定质量浓度范围内检测较为准确。然而,本课题组前期研究发现,米索硝唑pH敏感脂质体中的辅料磷脂酰乙醇胺对UV法测定药物含量的干扰大。如能通过简单的物理或化学预处理法,将脂质体中的磷脂酰乙醇胺除去,则可为UV法的应用奠定基础。为此,本研究拟采用金属离子沉淀法(以 $ZnCl_2$ 为金属离子沉淀剂)预处理除去米索硝唑pH敏感脂质体中的磷脂酰乙醇胺,进而采用UV法测定其中主成分的含量,并将结果与HPLC法比较,为实现快速、简便、准确、低廉地测定该制剂中主成分的含量提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括VWD紫外检测器等(美国Agilent公司);ML204型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);UV-2400PCS型紫外-可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);PHS-3C型pH计(上海三信仪表厂);RE-52AA型旋转蒸发器(上海振捷实验设备有限公司);SHZ-D(Ⅲ)型循环水式多用真空泵(河南予华仪器制造有限公司);XW-80A型旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);SK1200H型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);TGL-16G型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);ZRS-8G型智能溶出仪(天津大学无线电厂)。

1.2 药品与试剂

米索硝唑原料药(青岛捷世康生物科技有限公司,批号:20170219,纯度: $\geq 98.5\%$);米索硝唑对照品(美国Cayman公司,批号:15606-201610,纯度:99.5%);磷脂酰乙醇胺、胆固醇、亚油酸、维生素E、羧甲基壳聚糖(羧化度:80%)、 $ZnCl_2$ 均为药用级;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 米索硝唑pH敏感脂质体的制备

采用薄膜分散法制备米索硝唑pH敏感脂质体。按处方辅料配比分别精密称取磷脂酰乙醇胺、胆固醇、亚油酸、维生素E(比例为3:1:1:0.1, $m/m/m/m$)各适量,置于同一100 mL圆底烧瓶中,加入10 mL氯仿使溶解,将烧瓶连接旋转蒸发器,在37 °C、100 r/min、减压条件下挥干氯仿,得贴于烧瓶内壁一层均匀的薄膜;加入含米索硝唑的磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)(药液比为1:9, m/m)使溶解,在50 °C、100 r/min、避光条件下水化60 min,得微黄色脂质体溶液;将上述脂质体溶液超声(功率:180 W,频率:40 kHz)处理10 min,经0.22 μ m微孔滤膜过滤,取续滤液,加入0.5 mL 0.3%羧甲基壳聚糖溶液,在50 °C、100 r/min、避光条件下继续水合0.5 h,即得米索硝唑pH敏感脂质体。另不加入米索硝唑,同法制备空白脂质体。取上述空白脂质体5 mL,按处方比例加入适量米索硝唑溶液,物理混匀,即得空白脂质体+米索硝唑溶液。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取在五氧化二磷中干燥12 h后的米索硝唑对照品12.0 mg,置于25 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,制成米索硝唑质量浓度为0.48 mg/mL的对照品溶液。

2.2.2 辅料溶液 按处方辅料配比分别精密称取磷脂酰乙醇胺、胆固醇、亚油酸、维生素E各适量,先以氯仿溶解,随后加入甲醇稀释,制成磷脂酰乙醇胺、胆固醇、亚油酸、维生素E质量浓度分别为2.33、0.82、0.84、0.08 mg/mL的混合溶液;羧甲基壳聚糖以水溶解制成质量浓度为0.02 mg/mL的溶液。将上述2种溶液等体积混合,

即得。

2.2.3 未经预处理的空白脂质体溶液 精密量取“2.1”项下空白脂质体 100 μL , 加入 900 μL 甲醇破乳, 涡旋 5 min 混匀, 室温静置 15 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 即得。

2.2.4 经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液 精密量取“2.1”项下米索硝唑 pH 敏感脂质体 100 μL , 加入 800 μL 甲醇破乳, 涡旋 5 min 混匀, 加入 50 mg/mL ZnCl_2 甲醇溶液 100 μL , 涡旋 5 min 混匀, 室温静置 15 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 即得。

2.2.5 经预处理的空白脂质体溶液 精密量取“2.1”项下空白脂质体 100 μL , 加入 800 μL 甲醇破乳, 涡旋 5 min 混匀, 加入 50 mg/mL ZnCl_2 甲醇溶液 100 μL , 涡旋 5 min 混匀, 室温静置 15 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 即得。

2.2.6 经预处理的空白脂质体+米索硝唑溶液 精密量取“2.1”项下空白脂质体+米索硝唑 100 μL , 加入 800 μL 甲醇破乳, 涡旋 5 min 混匀, 加入 50 mg/mL ZnCl_2 甲醇溶液 100 μL , 涡旋 5 min 混匀, 室温静置 15 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 即得。

2.3 UV 法测定脂质体中主成分的含量

2.3.1 专属性试验 (1) 未经预处理样品。取“2.2”项下对照品溶液、辅料溶液、未经预处理的空白脂质体溶液各适量, 于 200~400 nm 波长范围内扫描, 光谱图见图 1 (图中 PE 为磷脂酰乙醇胺, LA 为亚油酸, VE 为维生素 E, CHO 为胆固醇, CMC 为羧甲基壳聚糖)。由图 1 可知, 米索硝唑在 322 nm 波长处有最大吸收, 但辅料磷脂酰乙醇胺在 322 nm 波长处也有较大吸收, 即对主成分测定有很大干扰, 而辅料胆固醇、亚油酸、维生素 E、羧甲基壳聚糖在 322 nm 波长处无明显吸收, 即对主成分测定无明显干扰; 未经预处理的空白脂质体在 322 nm 波长处亦有较明显的紫外吸收, 即此时无法消除磷脂酰乙醇胺对主成分测定的干扰。

(2) 经预处理样品。取“2.2”项下经预处理的空白脂质体溶液、空白脂质体+米索硝唑溶液、米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液各适量, 于 200~400 nm 波长范围内扫描, 光谱图见图 2。由图 2A 可知, 经预处理完全沉淀了辅料磷脂酰乙醇胺, 空白脂质体在 322 nm 波长处无明显的紫外吸收; 由图 2B、C 可知, 米索硝唑的最大吸收峰仍出现在 322 nm 波长处, 因而此时辅料对主成分的测定已无干扰。

2.3.2 线性关系考察 分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 10、20、40、80、160、320 μL , 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 制成系列对照品溶液。以甲醇为空白, 于 322 nm 波长处测定吸光度。以米索硝唑质量浓度 (c , $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标、吸光度 (A) 为纵坐标进行线性回归, 得米索硝唑回归方程 $A=0.0328c-0.008$ ($r=0.9996$)。结果表明, 米索硝唑检测质量浓度线性范围为 0.96~30.72 $\mu\text{g/mL}$ 。

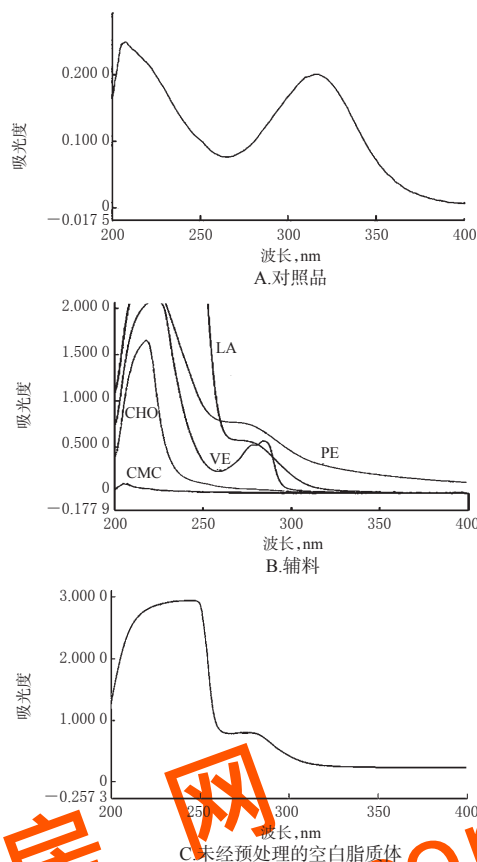


图 1 未经预处理样品的紫外吸收光谱图

Fig 1 UV absorption spectra of untreated sample

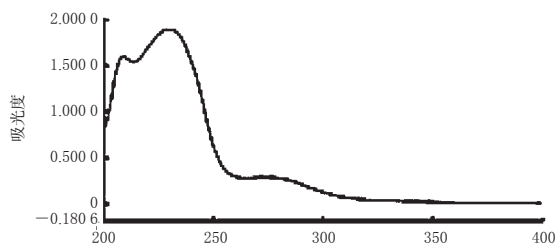
2.3.3 精密性试验 取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 分别加甲醇制成低、中、高质量浓度 (3.84、7.68、15.36 $\mu\text{g/mL}$) 对照品溶液, 以甲醇为空白, 于 322 nm 波长处测定吸光度, 连续测定 6 次。结果, 米索硝唑吸光度的 RSD 分别为 0.93%、0.62%、0.48% ($n=6$), 表明仪器精密性良好。

2.3.4 稳定性试验 取“2.2.4”项下经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液适量, 分别在室温下放置 0、2、4、6、12 h 时, 以甲醇为空白, 于 322 nm 波长处测定吸光度。结果, 米索硝唑吸光度的 RSD 为 0.91% ($n=5$), 表明经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液在室温下放置 12 h 内基本稳定。

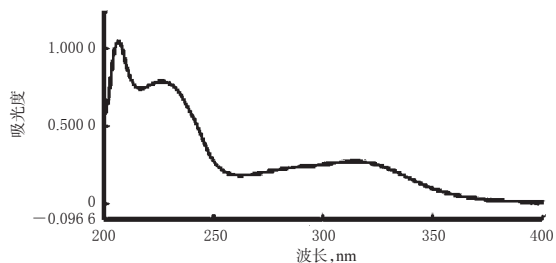
2.3.5 重复性试验 取“2.1”项下米索硝唑 pH 敏感脂质体适量, 共 6 份, 按“2.2.4”项下方法制备经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液。以甲醇为空白, 于 322 nm 波长处测定吸光度并计算主成分的含量。结果, 米索硝唑含量平均值为 99.20%, RSD 为 1.55% ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.3.6 回收率试验 取“2.1”项下米索硝唑 pH 敏感脂质体适量, 共 9 份, 按“2.2.4”项下方法制成低、中、高质量浓度的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液。以甲醇为空白, 于 322 nm 波长处测定吸光度并计算回收率, 结果见表 1。

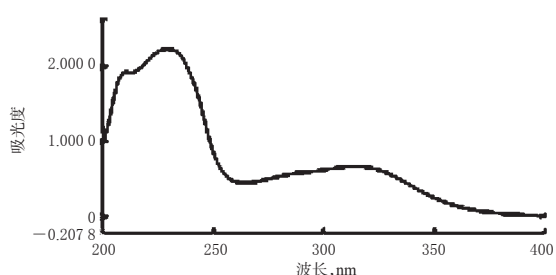
2.3.7 米索硝唑 pH 敏感脂质体中主成分的含量测定 取“2.1”项下米索硝唑 pH 敏感脂质体适量, 按“2.2.4”项下



A. 经预处理的空白脂质体



B. 经预处理的空白脂质体+米索硝唑



C. 经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体

图2 经预处理样品的紫外吸收光谱图

Fig 2 UV absorption spectra of treated sample

表1 UV法回收率试验结果 (n=9)

Tab 1 Results of recovery tests for UV (n=9)

| 样品含量, μg | 测得量, μg | 回收率, % | 平均回收率, % | RSD, % |
|---------------------|--------------------|--------|----------|--------|
| 3.84 | 3.764 0 | 98.02 | | |
| 3.84 | 3.820 0 | 99.48 | | |
| 3.84 | 3.733 6 | 97.23 | | |
| 7.68 | 7.765 4 | 99.68 | | |
| 7.68 | 7.763 7 | 101.09 | 100.21 | 1.05 |
| 7.68 | 7.796 0 | 101.51 | | |
| 15.36 | 15.717 9 | 102.33 | | |
| 15.36 | 15.412 2 | 100.34 | | |
| 15.36 | 15.668 7 | 102.01 | | |

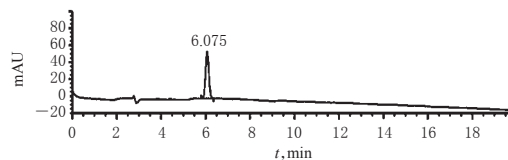
方法制备经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液。以甲醇为空白,于 322 nm 波长处测定吸光度并计算含量。平行测定 3 次。结果,3 次测得的米索硝唑含量分别为 99.86%、100.16%、100.32% (RSD=0.56)。

2.4 HPLC 法测定脂质体中主成分的含量

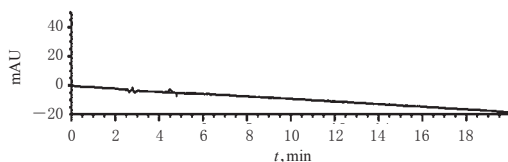
2.4.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (20:80, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 322 nm; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 20 μL 。

2.4.2 专属性试验 取“2.2”项下对照品溶液、空白脂质体溶液、经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液和经预处理的空白脂质体+米索硝唑溶液各适量,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图 3。由图 3A 可知,米索硝唑出峰时间为 6.075 min;由图 3B 可知,

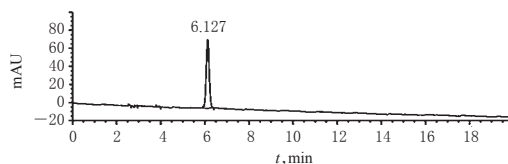
经预处理的空白脂质体已基本除去干扰主成分测定的辅料磷脂酰乙醇胺;由图 3C、D 可知,经预处理的空白脂质体+米索硝唑和米索硝唑 pH 敏感脂质体药物结构及极性未受影响,主成分出峰时间一致。



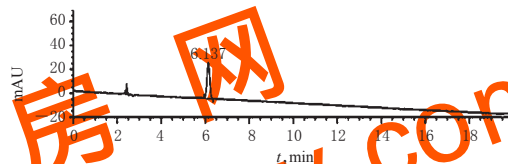
A. 对照品



B. 经预处理的空白脂质体



C. 经预处理的空白脂质体+米索硝唑



D. 经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体

图3 高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms

2.4.3 线性关系考察 分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 5、10、20、30、40、50 μL ,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各 20 μL ,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以米索硝唑质量浓度(x, $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得米索硝唑回归方程 $y=56.82x-5.36$ ($r=0.9995$)。结果表明,米索硝唑检测质量浓度线性范围为 0.48~4.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4.4 定量限与检测限考察 分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量,以甲醇倍比稀释,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比 10:1、3:1 分别计算定量限、检测限。结果,米索硝唑的定量限、检测限分别为 0.23、0.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4.5 精密度的试验 取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.4.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,米索硝唑峰面积的 RSD 为 1.08% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 取“2.2.4”项下经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液适量,分别在室温下放置 0、2、4、6、12 h 时,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,米索硝唑峰面积的 RSD 为 1.55% ($n=5$),表明经预处理的米索硝唑 pH 敏感脂质体溶液在室温下放

置12 h内基本稳定。

2.4.7 重复性试验 取“2.1”项下米索硝唑pH敏感脂质体适量,共6份,按“2.2.4”项下方法制备经预处理的米索硝唑pH敏感脂质体溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算主成分的含量。结果,米索硝唑含量平均值为99.60%,RSD为1.38%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.4.8 回收率试验 取“2.1”项下米索硝唑pH敏感脂质体适量,共9份,按“2.2.4”项下方法制成低、中、高质量浓度的米索硝唑pH敏感脂质体溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果见表2。

表2 HPLC法回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery tests for HPLC($n=9$)

| 样品含量, μg | 测得量, μg | 回收率, % | 平均回收率, % | RSD, % |
|---------------------|--------------------|--------|----------|--------|
| 0.96 | 0.957 6 | 99.75 | | |
| 0.96 | 0.934 6 | 97.35 | | |
| 0.96 | 0.955 1 | 99.49 | | |
| 1.92 | 1.869 1 | 97.35 | | |
| 1.92 | 1.911 2 | 99.54 | 98.66 | 1.15 |
| 1.92 | 1.886 0 | 98.23 | | |
| 3.84 | 3.811 2 | 99.25 | | |
| 3.84 | 3.815 0 | 99.35 | | |
| 3.84 | 3.748 2 | 97.61 | | |

2.4.9 米索硝唑pH敏感脂质体中主成分的含量测定 取“2.1”项下米索硝唑pH敏感脂质体适量,按“2.2.4”项下方法制备经预处理的米索硝唑pH敏感脂质体溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定并计算主成分的含量。平行测定3次,结果,3次测得的米索硝唑含量分别为99.95%、99.98%、100.05%(RSD=0.46)。由此可见,米索硝唑pH敏感脂质体经预处理后,采用UV法和HPLC法所测得的主成分含量之间无明显差异。

3 讨论

在对制剂进行质量控制时,选择合适的检测方法是关键,既要准确、可靠,又要方便、快捷。通常,对有紫外吸收的成分,其含量测定的首选方法是UV法或HPLC法^[11]。由于2015年版《中国药典》未收录米索硝唑及其制剂,因此,对米索硝唑及其制剂中主成分的含量测定方法没有现行的标准。

参考文献[12]报道,米索硝唑的最大吸收波长为320~325 nm。本试验通过紫外光谱扫描确定米索硝唑最大吸收波长为322 nm,而其pH敏感脂质体中的辅料磷脂酰乙醇胺在此波长下有明显干扰。磷脂分离方法包括有机溶剂萃取法、超临界流体萃取法、乙酰化法、柱层析法、膜分离法、金属离子沉淀法等^[13],其中金属离子沉淀法操作简单,即通过重金属离子与磷脂酰乙醇胺结构中的羧基或胺基强力结合,使其沉淀并可通过离心除去,不影响主成分的测定,更适合本研究。常用的金属离子沉淀剂包括 CoCl_2 、 ZnCl_2 、 NiCl_2 等。本课题组通过预试验对比发现, ZnCl_2 反应条件温和,不与主成分反应,不干扰主成分的紫外吸收,更适合本研究。采用 ZnCl_2

预处理后的脂质体溶液中经HPLC法分析证实已无磷脂酰乙醇胺存在,从而消除了其对主成分含量测定的干扰。

综上所述,UV法结合金属离子沉淀法操作简便、准确,精密度、稳定性、重复性好,可用于米索硝唑pH敏感脂质体中主成分的含量测定,其结果与HPLC法含量测定结果一致。

参考文献

- [1] BROWN JM. Clinical trials of radiosensitizers: what should we expect?[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1984, 10(3):425-429.
- [2] FOWLER JF, ADAMS GE. Proceedings: radiosensitization of hypoxic cells in solid tumours in mice[J]. *Br J Radiol*, 1975, 48(565):77-78.
- [3] SAUNDERS ME, DISCHE S, ANDERSON P, et al. The neurotoxicity of misonidazole and its relationship to dose, half-life and concentration in the serum[J]. *Br J Cancer Suppl*, 1978, 3:268-270.
- [4] FAZEKAS J, PAJAK TF, WASSERMAN T, et al. Failure of misonidazole-sensitized radiotherapy to impact upon outcome among stage III - IV squamous cancers of the head and neck[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1987, 13(8):1155-1160.
- [5] 庚丽丽,隋琳,张朋美,等. 大黄酚pH敏感性脂质体的制备及其质量评价[J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(10):1189-1193.
- [6] 叶鹏,戎佩佩,陈莉,等. 叶酸修饰的pH响应型阿霉素脂质体的制备及理化性质评价[J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(9):1065-1070.
- [7] 左甜甜,林贵梅,邵伟. 多西他赛pH敏感脂质体的制备及其理化性质评价[J]. *药物生物技术*, 2015, 22(1):25-28.
- [8] ZHANG H, XIA RY, LU X, et al. Docetaxel-loaded liposomes: preparation, pH sensitivity, pharmacokinetics, and tissue distribution[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2012, 13(12):981-989.
- [9] 杭太俊. *药物分析*[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社,2015:137.
- [10] WORKMAN P, LITTLE CJ, MARTEN TR, et al. Estimation of the hypoxic cell-sensitizer misonidazole and its O-demethylated metabolite in biological materials by reversed-phase: high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr*, 1978, 145(3):507-512.
- [11] FLOCKHART R, MALCOLM SL, MARTEN TR, et al. Some aspects of the metabolism of misonidazole[J]. *Br J Cancer Suppl*, 1978, 3(7):264-267.
- [12] 赵娅,冯慧,周珍,等. HPLC法同时测定四味姜黄汤散中7种成分的含量[J]. *中国药房*, 2018, 29(1):29-33.
- [13] 闫媛媛,张康逸,黄健花,等. 磷脂分离、纯化和检测方法的研究进展[J]. *中国油脂*, 2012, 37(5):61-65.

(收稿日期:2018-03-06 修回日期:2018-04-23)

(编辑:张静)