

文章编号: (2006)04-0176-05

## 反相高效液相色谱法测定阿德福韦酯脂质体药物含量

徐速, 邓意辉, 吴红兵, 张玲玲

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** **目的** 建立测定阿德福韦酯脂质体中药物含量的方法。 **方法** 采用 Diamonsil C18 柱 (4.6 mm×200 mm, 5 μm), 流动相为 0.025 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾-乙腈(体积比为 65:35), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 260 nm, 柱温为室温。 **结果** 在上述色谱条件下阿德福韦酯与辅料、溶剂及有关物质分离度均符合要求, 在 40 ~ 800 mg·L<sup>-1</sup> 内呈良好的线性关系( $r = 0.9999$ ,  $n = 6$ ), 阿德福韦酯平均回收率为 100.06%, RSD 为 0.35% ( $n = 3$ )。 **结论** HPLC 法可用于阿德福韦酯脂质体含量测定。

**关键词:** 药剂学; 阿德福韦酯; 脂质体; 反相高效液相色谱法; 含量测定

**中图分类号:** R94 **文献标识码:** A

阿德福韦<sup>[1]</sup> (adefovir, PME A) 是新型的抗病毒药物, 属于脱氧腺苷单磷酸化物的非环类似物, 起初作为治疗爱滋病的药物, 但因为作为爱滋病治疗药物所需的药物剂量较高, 爱滋病患者在长期服用后出现肾脏机能受损的副作用, 后将其剂量降低, 开发出新的适应症, 用于乙型肝炎治疗。

阿德福韦酯<sup>[2]</sup> (adefovir dipivoxil, ADV) 是阿德福韦的双特戊酰氧甲酯, 作为前体药物通过体内酯酶的作用转化为 PME A 而发挥药效。脂质体进入体内即被巨噬细胞作为外界异物吞噬, 具有 RES 靶向性, 主要靶向于肝脏和脾脏<sup>[3]</sup>。由于乙肝病毒主要分布于肝脏中, 将 ADV 制备成脂质体, 可以实现肝脏靶向, 提高疗效, 降低药物原有的肾脏毒性。

至今, 国内外尚未见到关于 ADV 脂质体的文献报道, 为了更好地对 ADV 脂质体进行质量控制, 作者建立了 ADV 的高效液相色谱法, 用于测定脂质体中 ADV 的含量。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱系统 (P230 高压恒流泵, UV200 紫外检测器, EC2000 色谱数据处理工作站, 大连依利特公司)。 ADV 原料药 (济南化工研究所), ADV 脂质体 (自制), 乙腈 (色谱醇, 江苏汉邦科技有限公司), 乙醇 (色谱醇, 江苏汉邦科技有限公司), 水为重蒸水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C18 柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm), 流动相: 0.025 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾-乙腈(体积比为 65:35), 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 紫外检测波长: 260 nm, 柱温: 室温, 进样量: 20 μL。外标法测定含量。

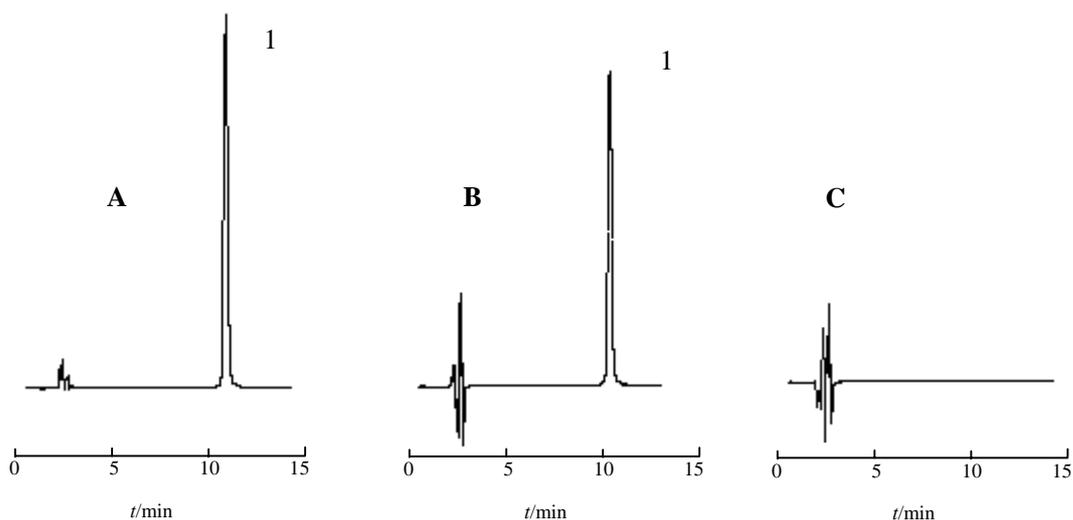
收稿日期: 2006-01-04

作者简介: 徐速(1980-), 男(汉族), 吉林辽源人, 硕士研究生; 邓意辉(1964-), 男(汉族), 湖南花垣人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事药物靶向新剂型的研究, Tel. 024-23986316, E-mail dds-666@163.com。

## 2.2 方法专属性考察

### 2.2.1 药物与辅料的分离

取 ADV 对照品溶液、ADV 脂质体及空白脂质体各 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,记录色谱图(见图 1)。由图可知空白辅料对主药的测定无干扰。

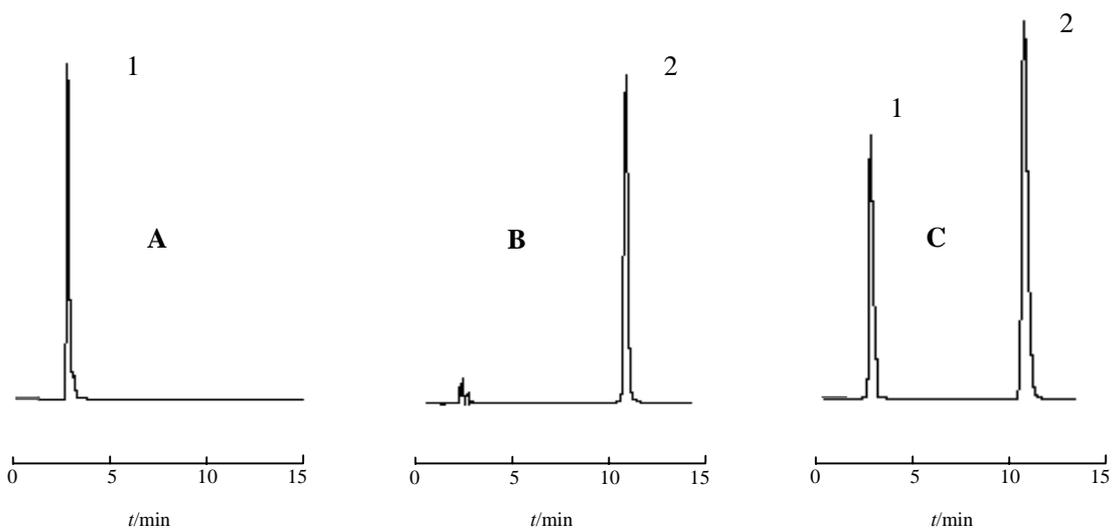


A-Standard; B-Liposomes; C-Excipient; 1-ADV

Fig. 1 Chromatograms of adefovir dipivoxil

### 2.2.2 药物与相关化合物的分离

分别取适宜质量浓度的 PME A 溶液、ADV 溶液和 PME A、ADV 两种溶液的混合液各 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,记录色谱图(见图 2)。结果 ADV 与 PME A 可完全分离,说明 PME A 在此色谱条件下不干扰 ADV 的测定。



1—PME A; 2—ADV

Fig. 2 Chromatograms of adefovir (A), adefovir dipivoxil (B) and mixture (C) of adefovir and adefovir dipivoxil

### 2.3 线性关系考察

取 ADV 对照品 200 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相 60 mL, 超声 3 min 使其溶解, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取该溶液 0.2、0.8、1.2、2.0、3.0、4.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释配制成质量浓度分别为 40、160、240、400、600、800 mg·L<sup>-1</sup> 的系列对照品溶液。各取 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积  $A$  对质量浓度  $\rho$  绘制标准曲线, 计算线性方程为:  $A = 1.9097 \times 10^4 \rho - 11.797 (r = 0.9999)$ 。上述试验结果表明, 本品在 40 ~ 800 mg·L<sup>-1</sup> 内样品质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.4 方法精密度试验

取“2.3”条下质量浓度为 400 mg·L<sup>-1</sup> 的 ADV 溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 平行测定 6 次, 记录色谱图及峰面积。所得 ADV 峰面积的 RSD 值为 0.52 %。

### 2.5 溶液稳定性试验

取“2.3”条下质量浓度为 400 mg·L<sup>-1</sup> 的 ADV 溶液适量, 于室温环境下放置, 并在 0、1、6、12、24 h 分别取样 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图测量峰面积, 所得 ADV 峰面积的 RSD 值为 0.55 %。试验结果表明, 该溶液在 24 h 内稳定。

### 2.6 定量下限

配制 0.5 mg·L<sup>-1</sup> ADV 对照品溶液, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 平行操作 6 次。并根据标准曲线计算每一次的测定质量浓度。结果(见表 1)求得 ADV 该质量浓度下的 RSD 为 11.1 %; RE 为 2.3 %。该结果表明该法测定 ADV 的定量下限为 0.5 mg·L<sup>-1</sup>。

Table 1 Precision and accuracy for the analysis of ADV at LLOQ (in prestudy validation,  $n = 6$ )

$\rho_{\text{added}} / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho_{\text{found}} / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\bar{x} / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	SD / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	RSD / %	RE / %
0.50	0.53				
0.50	0.46				
0.50	0.56	0.49	0.05	11.10	2.3
0.50	0.43				
0.50	0.46				
0.50	0.54				

### 2.7 回收率试验

取 ADV 对照品适量, 精密称定, 模拟处方工艺, 按处方中 ADV 质量的 80 %、100 %、120 % 分别投料后进行含量测定, 测定结果说明本品辅料对测定结果无干扰(见表 2)。

Table 2 The recovery results of adefovir dipivoxil ( $n = 3$ )

$m_{\text{added}}/ \text{mg}$	$m_{\text{found}}/ \text{mg}$	Recovery/ %	$\bar{x} / \%$	RSD/ %
8.09	8.07	99.75		
8.22	8.18	99.51		
8.12	8.10	99.75		
9.97	9.99	100.20		
10.06	10.07	100.10	100.06	0.35
9.98	10.03	100.50		
12.04	12.05	100.08		
11.98	12.05	100.58		
12.11	12.12	100.08		

## 2.8 样品的测定

分别精密量取3批ADV样品各0.5 mL,置10 mL量瓶中,加无水乙醇4 mL,超声使其溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,精密量取20  $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取ADV对照品适量,同法测定。按外标法以峰面积计算其标示量的百分含量。3批供试品的测定结果分别为:样品1:100.5%;样品2:100.2%;样品3:99.9%。

## 3 讨论

a.在流动相的选择上作者比较了甲醇-水系统、乙腈-水系统、乙腈-磷酸缓冲盐系统等,发现甲醇洗脱能力较差,阿德福韦酯的保留时间较长,且峰型较差,拖尾严重。后对乙腈-磷酸缓冲盐系统进行优化,选用 $0.025 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾-乙腈(体积比为65:35)作为流动相,此时阿德福韦酯保留时间适宜,约为11 min。

b.作者在选择色谱条件时曾尝试了多种色谱柱[Diamonsil ODS(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Hypersil BDS C18(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Kromasil ODS (4.6 mm $\times$ 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Betasil ODS(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ )]均可得到满意的色谱图,表明本法的耐用性好。

### 参考文献:

- [1] Cundy KC, Crovo PB, Walker RE, *et al.* Clinical pharmacokinetics of adefovir in human immunodeficiency virus type 1-infected patients[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(11):2401 - 2405.
- [2] Prous J, Graul A, Canstaner J. Adefovir dipivoxil [J]. *Drugs of the Future*, 1997, 22(8):825 - 829.
- [3] 崔福德. 药剂学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002. 37 - 38.

## Determination of adefovir dipivoxil in liposomes by RP-HPLC

XU Su; DENG Yi-hui; WU Hong-bing; ZHANG Ling-ling

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract: Objective** To establish a RP-HPLC method for determination of adefovir dipivoxil in liposomes. **Methods** The chromatographic separation was performed with a Diamonsil C<sub>18</sub> column (4.6 mm×200 mm, 5 μm) at room temperature, and the mobile phase was 0.025 mol·L<sup>-1</sup> phosphate buffer–acetonitrile (65 : 35, V/V), the flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>. Adefovir dipivoxil was detected at 260nm. **Results** Good linearity over the concentration range of 40~800 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.9999$ ,  $n = 6$ ) was obtained in this experiment. The average recovery was 100.06%. The RSD was 0.35%. **Conclusion** This method is simple, accurate and applicable for the determination of adefovir dipivoxil in liposomes.

**Key words:** pharmaceuticals; adefovir dipivoxil; liposomes; RP-HPLC; content determination

(责任编辑 吕向一)