

· 实验研究 ·

用双波长薄层扫描仪测定酮肟微囊针剂的含量

浙江医学研究院 韩锦文 汪岫芝 林毓颖 林 芳 沈文熙

提要 具抗生育作用的醋酸诺酮肟具有顺、反式异构体,经正己烷-醋酸乙酯薄层层离后,使用双波长薄层扫描技术,对其微型胶囊注射剂采用外标法进行含量测定,共做了五批样品,均可获得较好的重现性,变异系数在1.0—2.9%之间。斑点面积在72小时之内稳定。同时对其制剂的赋形剂也使用以上方法进行扫描,实验结果无任何干扰。

醋酸诺酮肟具有较强的抗生育活性,其微型胶囊(简称微囊)可制作缓释长效避孕注射剂。本文应用双波长薄层色谱扫描技术对其进行含量测定,结果表明,本法具有灵敏度高、专一性强、操作简便等优点。

狭缝宽度 $1.25 \times 1.25\text{mm}$;
散射参数 $SX = 3$ 。

用薄层扫描仪对酮肟原料作线性扫描,结果所测定的斑点能达到基线分离,故可以定量(见图1)

实验材料

岛津 CS-910 型 双波长薄层色谱扫描仪
(日本)

Chromatopac C-E1B 微处理机

微量进样器(上海科技光仪厂)

Shandon 涂布器(英国)

硅胶 HF₂₅₄₊₃₆₆ E. Merck

醋酸诺酮肟(顺式)、(反式)本院自制纯
品

实验方法和结果

一、薄层层析

1. 薄板的制备:称取适量硅胶HF₂₅₄₊₃₆₆,加入2.6倍量的1% CMC-Na溶液,用涂布器铺制成0.3mm厚的20×20cm薄板,室温干燥,用前于105℃活化1小时。

2. 展开剂:正己烷-醋酸乙酯(1:1)

二、测定条件

测定波长:样品波长 λ_S 241nm; 参比波长 λ_R 350nm;

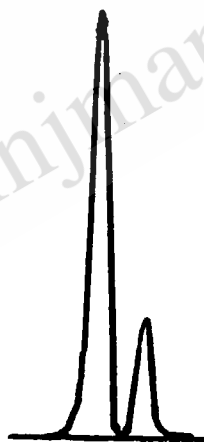


图1 酮肟原料经薄层层析后斑点的线性扫描图形

三、定量测定

1. 混合标准溶液的配制

精密称取醋酸诺酮肟顺、反式纯品各2.5mg,同置5ml量瓶中,加甲醇适量,于水浴加热溶解,俟冷却至室温后,加甲醇至刻度,每1 μl 溶液含顺、反式酮肟各0.5 μg 。

2. 标准曲线的绘制

用10 μl 微量进样器精密吸取混合标准

溶液 1、2、3、4、5、6、7 μ l, (相当于酮肟顺、反式标准品各为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 μ g)点样,上行法展开 15cm,俟溶剂自然挥尽后,反射法曲折扫描。以纯品重量(μ g)对斑点面积积分值作图,得两条通过原点的直线。(见图 2、表 1)。

3. 稳定性实验

精密量取等量的混合标准溶液,点样于同一薄板上,展开后自然挥去溶媒,于不同放置时间(0、4、10、24、48、72小时)进行曲折扫描,从图 3、表 2 中可以看到斑点面积积分值基本稳定。

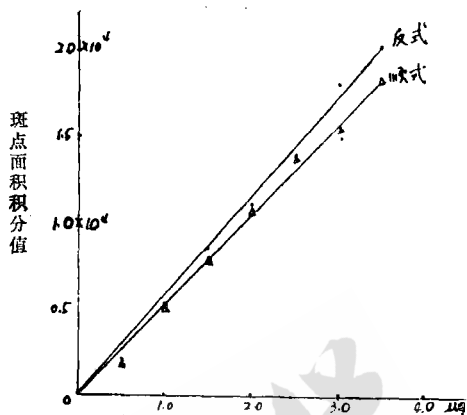


图 2 酮肟混合标准品的工作曲线

表 1 酮肟斑点的扫描积分值及回归

混合标准品量 (μ g)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	$y = a + bx$		
								a	b	r
反式	1850	5236	8669	11214	14544	18012	20116	-917.71	6150.36	0.9986
顺式	1973	4821	7748	10737	13528	15389	18127	-436.43	5384.14	0.9982

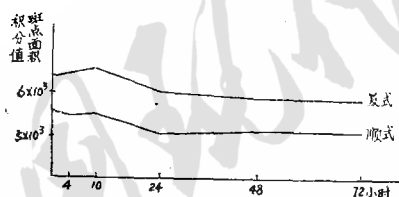


图 3 酮肟斑点面积积分值对时间作的图

4. 精密度实验

精密量取等量的混合标准溶液 7 份,分

别点样于同一块薄板上,上行展开后曲折扫描,并计算变异系数(CV)%,结果见表 3。

5. 含量测定

(1) 提取方法

精确吸取酮肟微囊混悬液 1ml,于 10ml 量瓶中,加入适量无水乙醇,水浴加热 30 分钟,并不断振摇,放置冷却至室温后,用无水乙醇加至刻度,滤过,收集滤液的中间部分作为样品溶液。本实验共做了 5 批微囊样品。

表 2 酮肟顺、反式斑点面积的稳定性

放置时间 (小时)	0	4	10	24	48	72
酮肟(反式)面积积分值	6351	6471	6547	6028	5840	5818
酮肟(顺式)面积积分值	5564	5479	5542	5034	5128	5109

表 3 酮肟斑点面积积分值的精密度

样 品	酮 肟 斑 点 面 积 积 分 值							\bar{x}	SD	CV%
	6369	6260	6150	6373	6351	6302	6197			
反式	6369	6260	6150	6373	6351	6302	6197	6286	87.59	1.4
顺式	5682	5627	5623	5735	5564	5503	5644	5638.29	56.61	1.0

(2) 测定

精密量取混合标准溶液 3、4 μ l 点样, 作为随行标准; 另精密抽取样品溶液 3 μ l \times 5, 点样于同一薄板上, 展开后, 挥尽溶媒, 并

分别进行曲折扫描。用微处理机的分析参数及计算参数, 按群集法操作, 定量计算采用外标法^[1,2], 在记录斑点扫描峰的同时, 微处理机直接打印出样品含量, 结果见表 4。

表 4 酮肟微囊样品的含量测定

样 品	酮 肟 微 囊 的 含 量 (mg/ml)					\bar{x}	SD	CV%
1	13.27	13.53	13.15	13.34	13.30	13.32	0.1381	1.0
2	14.32	14.54	14.07	14.55	14.40	14.38	0.0197	1.4
3	10.68	10.72	11.06	10.47	10.41	10.67	0.2561	2.4
4	8.45	8.40	7.98	8.26	8.12	8.24	0.1950	2.4
5	11.36	10.76	10.78	10.62	10.59	10.82	0.3121	2.9

以上结果表明, 用外标法测定可获得较好的重现性, 变异系数在 1.0—2.9% 之间。

讨 论

1. 本实验在扫描时发现顺反二式的酮肟在称量相同的情况下斑点面积的强度不一, 通常反式比顺式为强, 故文中所列的图、表中, 顺反二式的斑点面积积分值均有一定差别, 且反式较高, 这与文献中对肟类化合物顺反式的记载相符合^[3]。

2. 用双波长薄层扫描仪进行定量测定时, 采用随行标准可克服因层离时各种因素的微小变化带来的层离斑点的误差。

3. 过去曾使用紫外分光光度法进行酮肟微囊的含量测定, 但常因空白微囊及混悬剂 CMC-Na 之抽提液在紫外测定时会出现异常现象, 如空白微囊之抽提液紫外测定时有时有一定的吸收值, 从而影响了峰值。本实验对以上两因素均做过抽提和扫描, 结果斑点积分值等于零, 可见在使用本法测定时, 以上赋形剂对其无影响。本法是一灵敏度高、结果准确、操作简便的方法。

参 考 文 献

- [1] 郭希圣等: 药学报 18(6): 447—451, 1983
- [2] 何丽一: 中草药 14(9): 11—14, 1983
- [3] 叶鼎彝: 上海医学院论文摘要汇编 105, 1979