

外用避孕药膜中壬苯醇醚含量 测定方法的比较

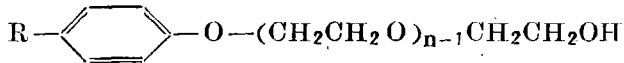
董善士 杨仲元* 安登魁

Comparative Study of the Determination of Nonyl phenoxy- polyoxyethylene in Contraceptive Film.

Dong Shanshi Yang Zhongyuan An Dengkui

【提要】本文利用紫外分光光度法中的正交函数法、双波长测定法、联立方程法对外用避孕药膜中主药壬苯醇醚的含量测定,进行了考察和比较。

外用避孕药膜系由主药壬苯醇醚(Nonylphenoxy polyoxyethylene)、成膜材料聚乙烯醇(简称PVA)、增塑剂水和甘油组成。壬苯醇醚的结构式为:



烷基(R-)中碳数为8—9, $n=10$ 。它是由烷基苯酚与环氧乙烷加聚而成的混合物(简称741),无色或淡黄色粘状液体。壬苯醇醚是一大类表面活性剂。它的亲脂基为壬苯,亲水基为聚氧乙烯。两者通过醚键结合在一起形成非离子型表面活性剂,具有杀精子作用。

测定壬苯醇醚的含量是考察药膜内在质量的主要指标。由于处方中尼泊金乙酯的存在,而不能用分光光度法直接测定药膜中的壬苯醇醚^[1],有的单位则采用离子交换—分光光度法排除尼泊金乙酯的干扰^[2]。本文着重探讨在壬苯醇醚与尼泊金乙酯共存的情况下,不经任何分离手续,直接利用紫外分光光度法测定壬苯醇醚的含量。根据药膜中各成分在水溶液中的紫外吸收曲线(参见图1),我们采用了下列三种方法测定其含量:正交函数法,多组分的吸收光谱互相重迭的联立方程法(简称联立方程法)、双波长测定法。

1. 正交函数法^[3]:

基于任何一个分光光度吸收曲线都可以用一个 p 次多项式来模拟。用一组特殊多项式

$$\psi_p(X_\alpha) \text{ 代替多项式的各次幂, 在 } X \text{ 等间隔取值时, } \sum_{\alpha=1}^n \psi_p(X_\alpha) = 0, \quad \sum_{\alpha=1}^n \psi_i$$

$(X_\alpha)\psi_j(X_\alpha) = 0 \quad (i \neq j)$, 而使正规方程组的系数矩阵为对角阵, 很容易求得 j 次项的回归系数:

1979年7月4日收稿

* 武汉市药品检验所

$$d_j = \frac{\sum_{\alpha=1}^n A_{\alpha} \psi_j(X_{\alpha})}{\sum_{\alpha=1}^n \psi_j^2(X_{\alpha})}$$

式中 A_{α} 为 $1-n$ 个等间隔波长处分别测得的吸收值, $\psi_j(X_{\alpha})$ 值可以从正交多项式表中查得。由于 d_j 与其它次项回归系数不相关, 干扰物的 d_j 值等于零或小到可以忽略时, 即可用于定量测定。

我们^[4]已建立了用正交函数法测定外用避孕药膜中壬苯醇醚含量的条件, 具体方法见本文“药膜的测定”项下。根据计算出来的二次正交多项式回归系数 d_2 和 $d_{1em}^{1\%}$, 即可计算为标示量的百分含量。

$$d_2 = (+5)A_{263} + (-1)A_{267} + (-4)A_{271} + (-4)A_{275} + (-1)A_{279} + (+5)A_{283}$$

2. 联立方程法:

系根据吸收值的加和性原则, 在壬苯醇醚和尼泊金乙酯的最大吸收波长 275nm 及 255nm 处, 分别测定混合物的吸收值 A_{275}^{a+b} 及 A_{255}^{a+b} , 从以下关系式求得结果:

$$\begin{cases} A_{275}^{a+b} = A_{275}^a + A_{275}^b = \varepsilon_{275}^a \cdot C^a + \varepsilon_{275}^b \cdot C^b \\ A_{255}^{a+b} = A_{255}^a + A_{255}^b = \varepsilon_{255}^a \cdot C^a + \varepsilon_{255}^b \cdot C^b \end{cases}$$

解联立方程:

$$C^a = \frac{\frac{\varepsilon_{255}^b}{\varepsilon_{275}^b} \cdot A_{275}^{a+b} - A_{255}^{a+b}}{\frac{\varepsilon_{255}^b}{\varepsilon_{275}^b} \cdot \varepsilon_{275}^a - \varepsilon_{255}^a}$$

$$C^b = \frac{A_{275}^{a+b} - A_{275}^a \cdot C^a}{\varepsilon_{275}^b}$$

C^a 代表壬苯醇醚的浓度, C^b 代表尼泊金乙酯的浓度。

3. 双波长测定法^[5]:

两条不同波长的光束 λ_1 及 λ_2 在单位时间内以一定频率交替照射同一溶液, 其由检测器测出的吸收值是 λ_1 和 λ_2 吸收值的差值 (ΔA)。而 ΔA 与被测物质的浓度呈比例关系。

在用双波长法测定药膜时, 首先测定纯壬苯醇醚、尼泊金乙酯及其混合物的紫外吸收曲线 (参见图 I), 然后根据曲线和混合物吸收加和性的原则来选择测定波长 λ_1 , 参比波长 λ_2 , 使其合乎定量要求, 消除尼泊金乙酯的干扰。

药膜在 λ_1 处的 $A_{\lambda_1} = A_{\lambda_1}^{\text{壬}} + A_{\lambda_1}^{\text{尼}}$

药膜在 λ_2 处的 $A_{\lambda_2} = A_{\lambda_2}^{\text{壬}} + A_{\lambda_2}^{\text{尼}}$

$$\begin{aligned}\Delta A &= A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2} = A_{\lambda_1}^{\text{壬}} + A_{\lambda_1}^{\text{尼}} - A_{\lambda_2}^{\text{壬}} - A_{\lambda_2}^{\text{尼}} \\ &= A_{\lambda_1}^{\text{壬}} - A_{\lambda_2}^{\text{壬}} + A_{\lambda_1}^{\text{尼}} - A_{\lambda_2}^{\text{尼}}\end{aligned}$$

由于尼泊金乙酯在 λ_1 及 λ_2 处的吸收值

相同, $A_{\lambda_1}^{\text{尼}} = A_{\lambda_2}^{\text{尼}}$

$$\therefore \Delta A = A_{\lambda_1}^{\text{壬}} - A_{\lambda_2}^{\text{壬}}$$

实验材料

一、试药:

壬苯醇醚原料: 旅顺化工厂产品

尼泊金乙酯: 药用规格

聚乙烯醇 (PVA): 进口品

甘油: 药用规格

无水乙醇: A.R. 级

二、样品:

外用避孕药膜: 南京药学院药厂产品

三、主要仪器:

UV-300型 双波长双光束差示自动记录分光光度计(日本岛津)

QR-50型 紫外可见分光光度计(日本岛津)

751型 紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂)

微量分析天平WT-2A型 (北京天平厂)

二万分之一单盘分析天平 (瑞士)

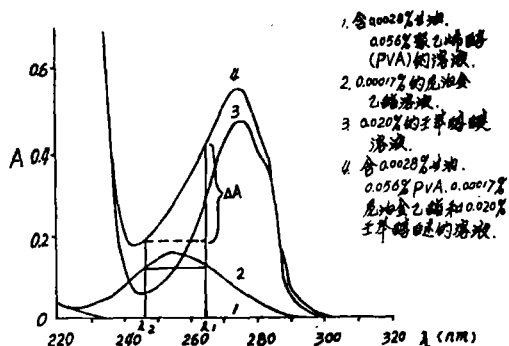


图 I 外用避孕药膜中各成分的吸收曲线

实验与结果

一、联立方程法:

1. 壬苯醇醚及尼泊金乙酯的 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值测定

精密称取壬苯醇醚五份于小烧杯中, 加适量水使溶解, 分别定量地转移入 5 只 100ml 容量瓶中, 加水至刻度, 混匀, 称为浓溶液。然后用同一支 10ml 移液管, 分别吸取上述溶液 10ml 于 5 只干燥的 50ml 容量瓶中, 再用该支移液管吸取 10ml 水, 分别加入到 50ml 容量瓶中, 混匀, 称为稀溶液。浓、稀溶液共 10 份, 以蒸馏水作空白, 置 1cm 石英吸收池中, 在三台不同牌号的分光光度计上于 275nm 和 255nm 波长处测定吸收值, 然后进行数学处理求得 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 的平均值如下:

壬苯醇醚的 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 275nm=23.99, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 255nm=6.046

尼泊金乙酯的 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 275nm=382.5, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 255nm=901.4

此处所求得值 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$, 为一参考值。因为所用壬苯醇醚对照品为一混合物, 并不完全都是壬基取代物。不同批号的对照品, 其取代情况可能不同, 因而 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值可能有变异。但经多批测定后, 就会找出在一定生产工艺条件下, 该物质的 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值。

注: 尼泊金乙酯的 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值测定方法省略

2. 壬苯醇醚含量计算公式的建立

将上述平均值分别代入联立方程中, 化简, 求得

$$Ca = 46.68 \times A_{275}^{a+b} - 19.81 \times A_{255}^{a+b}$$

由该公式算出的壬苯醇醚的含量为mg/100ml

二、双波长测定法:

1. 等吸收波长的选择

精密称取尼泊金乙酯约5mg置于小烧杯中, 加适量水, 加热溶解, 定量地转移入50ml容量瓶中, 再加水至刻度, 混匀。分别吸取上述溶液1ml(0.1mg)、2ml(0.2mg)、3ml(0.3mg)、4ml(0.4mg)于100ml容量瓶中, 加水至刻度, 混匀。以图解法求得测定波长265nm为固定波长 λ_2 。将 λ_1 从350—200nm分别扫描上述四种不同浓度的溶液, 得到等吸收波长 $\lambda_1 = 264\text{nm}$, $\lambda_2 = 246\text{nm}$ (见图 I)。在此基础上再作精确选定。其方法是: 使 $\lambda_1 = 264\text{nm}$, 在 $\lambda_2 = 246\text{nm}$ 附近逐一选定一个适合的波长, 使上述溶液的 $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2} = 0$ (或小到可以忽略不计)。实验结果, 选定 $\lambda_1 = 264\text{nm}$, $\lambda_2 = 246.5\text{nm}$ 组合波长最为适宜, 能消除尼泊金乙酯的干扰。

2. 工作曲线的绘制:

精密称取壬苯醇醚0.1g置于小烧杯中, 加水适量使溶解, 定量转移入100ml容量瓶中, 再加水至刻度, 混匀。分别吸取上述溶液5ml(0.005g)、10ml(0.010g)、15ml(0.015g)、20ml(0.020g)于50ml容量瓶中, 分别加尼泊金乙酯1ml(0.1mg), 加水至刻度、混匀。以 $\lambda_1 = 264\text{nm}$ 为测定波长, $\lambda_2 = 246.5\text{nm}$ 为参比波长, 进行双波长测定, 得到吸收值的差值 (ΔA), 对浓度 C 绘制工作曲线, 参见图 II。

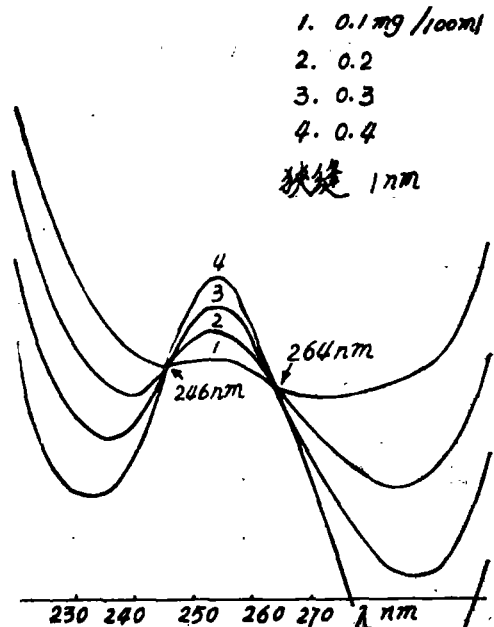


图 I 一个波长固定在 265nm 和另一个波长扫描测得的等吸收波长光谱

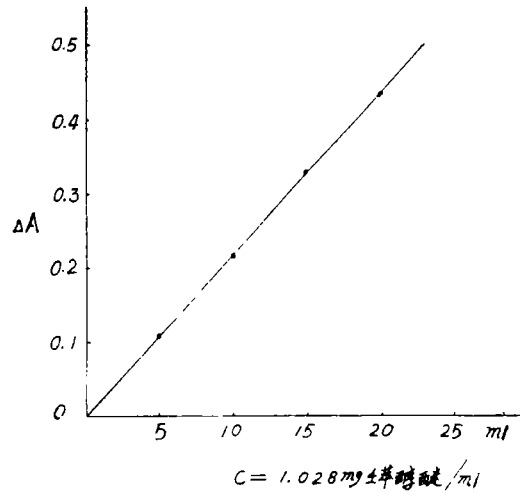
三、壬苯醇醚的回收率试验：

精密称取壬苯醇醚0.01g置于小烧杯中，加水适量使溶解，定量转移入 50ml 容量瓶中，再加尼泊金乙酯溶液5ml（0.0172g）、PVA 溶液 10ml（0.028g）、甘油溶液5ml（0.0014g），并加水至刻度、混匀，然后置1cm 石英吸收池中，按下法进行试验：

1.联立方程法：在 275nm和255nm波长处测定吸收值，计算C^a值及百分回收率，结果见表 1。

壬苯醇醚的百分回收率= $\frac{C^a}{W \times 2} \times 100\%$

2.双波长测定法：在λ₁=264nm，λ₂=246.5nm 处测定吸收值的差值（ΔA），同时求对照品壬苯醇醚的 ΔE_{1cm}^{1%} 值，计算百分回收率，结果见表 2。



图Ⅲ 壬苯醇醚的吸收值差值法的工作曲线
(测定波长=264nm，参比波长=246.5nm)

表 1 壬苯醇醚的回收率试验（联立方程法）

测定方法	联 立 方 程 法								
编 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
加入量(mg)	21.742	21.620	20.740	21.760	22.020	21.280	23.304	21.660	20.930
回收量(mg)	21.891	21.810	20.889	21.998	22.377	21.084	23.272	21.825	21.229
回收率(%)	100.7	100.9	100.7	101.1	101.6	99.08	99.86	100.8	101.4
平 均 值	100.7								
变异系数	0.77%								

表 2 壬苯醇醚的回收率试验(双波长测定法)

测 定 方 法	双 波 长 测 定 法*				
编 号	1	2	3	4	5
加入量 (mg)	11.580	13.460	13.810	16.920	13.840
回收量 (mg)	11.510	13.700	13.750	17.120	13.800
回收率 (%)	99.42	101.1	99.56	101.2	99.68
平 均 值	100.7				
变 异 系 数	0.88%				

*Δ E_{1cm}^{1%} = 10.51(参考值)，λ₁=264nm，λ₂=246.5nm

$$\text{壬苯醇醚的百分回收率} = \frac{\Delta A}{\Delta E_{1\text{cm}}^{1\%} \times W \times 2} \times 100\%$$

3. 正交函数法: 参阅文献^[4]。

四、药膜测定液的稳定性:

取药膜两张分别称重, 各置于小烧杯中, 加热溶解, 定量转移入500ml和250ml容量瓶中, 加水至刻度, 混匀。在0、30、60、90、120、150分钟测定吸收值。实验结果表明, 在2.5小时内测定液稳定(参见图IV), 放置36小时后测定吸收值变化约0.002。

五、药膜的测定:

该外用避孕药膜标示每张重0.2g, 含壬苯醇醚0.05g。

取药膜五张, 每张药膜按下法测定: 精密称定, 置小烧杯中, 加水适量, 加热溶解, 定量转移入250ml容量瓶中, 再加水至刻度, 混匀, 然后置于1cm石英吸收池中分别进行下列测定:

1. 联立方程法:

在275nm和255nm波长处测定吸收值, 计算 C^a 浓度, 按下列公式计算壬苯醇醚为标示量的百分含量。

$$\text{每0.2g药膜中壬苯醇醚相当于标示量的百分含量} = \frac{C^a \times 2.5 \times 0.200 \times 100}{W \times 0.050} = \frac{C^a \times 1000}{W}$$

2. 双波长测定法:

在 $\lambda_1 = 264\text{nm}$, $\lambda_2 = 246.5\text{nm}$ 波长处测定吸收值的差值(ΔA)。同时取对照品约0.01g, 精密称定, 置50ml容量瓶中, 加水至刻度, 混匀后依法测定, 计算 $\Delta E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值。并按下列公式计算壬苯醇醚为标示量的百分含量。

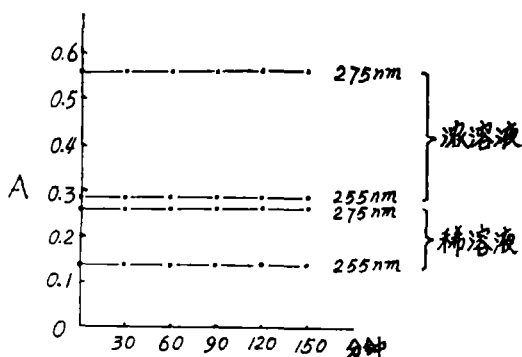
$$\text{每0.2g药膜中壬苯醚相当于标示量的百分含量} = \frac{\Delta A \times 2.5 \times 0.200 \times 100}{\Delta E_{1\text{cm}}^{1\%} \times W \times 0.050} = \frac{\Delta A \times 100}{\Delta E_{1\text{cm}}^{1\%} \times W}$$

3. 正交函数法:

在263nm、267nm、271nm、275nm、279nm、283nm波长处测定吸收值。同时取壬苯醇醚对照品约0.01g, 精密称定, 置50ml容量瓶中, 加水至刻度, 混匀后依法测定, 计算 $d_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值。另按照下列公式计算壬苯醇醚为标示量的百分含量。

$$\text{每0.2g药膜中壬苯醇醚相当于标示量的百分含量} = \frac{d_2 \times 250 \times 0.200 \times 100}{d_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times W \times 0.050} = \frac{d_2 \times 100}{d_{1\text{cm}}^{1\%} \times W}$$

式中W代表药膜的重量



图IV 药膜测定液放置不同时间后吸收值的考察

以上方法测定结果见表3。

讨 论

一、利用正交函数法、双波长测定法、联立方程法测定药膜中壬苯醇醚的含量都可以得到满意的结果。联立方程法系经典方法,需要测壬苯醇醚与尼泊金乙酯的 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 值,一般认为比较麻烦。双波长测定法,只要 λ_1 和 λ_2 波长选择适当,就能将共存物吸收的背景消除,因而不必要进行萃取分离,就可直接进行混合物的定量测定。另外,也不需要参比吸收池,只用一个吸收池即可进行测定,故没有吸收池可能带来的误差,分光光度分析的精度也可以适当提高。但是它需要双波长分光光度计,所以应用的广泛性受到限制。而正交函数法,如果波长选择得适当,不需要特殊仪器,用一般的紫外分光光度计就可以消除共存物的干扰。所以它比较适用,宜予推广。

二、由于正交函数法、双波长测定法需要测定吸收峰斜坡上的吸收值,所以每次测定波长要选准,操作要严格。否则由此而引起的误差可能超过2%。

南京药学院药厂王祖寿、金英才两位工程师协助进行工作并提供试样,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 李汉蕴、陶仁钧、钱俊斌:南京药学院“药料资料”(1):37, 1978
- [2] 旅大市药品检验所:“避孕药膜中烷基苯氧聚醇10含量测定的研究结果”(内部资料)
- [3] 杨仲元、安登魁:南京药学院学报(2):61, 1979
- [4] 杨仲元、董善士、安登魁:南京药学院学报(1):45, 1980
- [5] Shimadzu Double-Beam/Difference/Dual-wavelength Recording Spectrophotometer Model UV-300 “Instruction Manual”

表3 用三种方法测定药膜中壬苯醇醚的含量结果

测定方法	正交函数法*					双波长测定法**					联立方程法				
批号	790607					790607					790607				
编号	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
相当于标示量的百分含量	108.4	108.8	108.5	109.3	108.5	109.9	109.3	108.5	109.2	110.2	112.1	111.5	110.7	111.1	112.2
平均值	108.7					109.4					111.5				
变异系数	0.34%					0.6%					0.58%				
* $d_{1\text{cm}}^{1\%} = -64.25$ (参考值) ** $\Delta E_{1\text{cm}}^{1\%} = 10.51$ (参考值)															