

荧光光谱法测定复方己酸孕酮注射液中 微量组分戊酸雌二醇的含量

谢大年¹ 葛建华 蓝琪田 于如振

(分析化学教研室)

关键词 荧光光谱法；复方己酸孕酮注射液；戊酸雌二醇

复方己酸孕酮注射液为国内常用长效甾体避孕药。制剂中含有己酸孕酮和戊酸雌二醇两种组分,由于戊酸雌二醇的相对含量低,且紫外吸收较弱,给分析带来一定困难。药典^[1]含量测定项下,无戊酸雌二醇的含量测定方法。有报道用雌激素的自然荧光测定雌激素的含量^[2],也有报道^[3]在炔诺酮和赋形剂存在下,以90%的硫酸溶液处理样品,荧光光谱法测定炔雌醇的含量。本文研究了利用戊酸雌二醇的自然荧光,在大量干扰物质存在下,选择适当的测定条件,直接荧光法测定戊酸雌二醇的含量。本法未见报道。

1 实验部分

1.1 仪器与试药

Hitachi 650-60 荧光分光光度计(日本日立); Mettler AE 240 电子天平; Shimadzu 2000 紫外分光光度计(日本岛津)。

戊酸雌二醇对照品(中国药品生物制品检定所提供的);分析纯无水乙醇;硫酸奎宁。

1.2 荧光分析条件的选择

1.2.1 激发光谱与发射光谱

取每毫升含0.4 μg的戊酸雌二醇溶液,用荧光分光光度计扫描,得激发光谱和发射光谱(如图1所示)。

1.2.2 激发波长的选择

按处方配制不含戊酸雌二醇的空白溶液,

用紫外分光光度计扫描,空白溶液在低于290 nm 波长有较强吸收,不宜选择271 nm 为激发波长,而选择295 nm 为荧光测定的激发波长,308 nm 为发射波长。

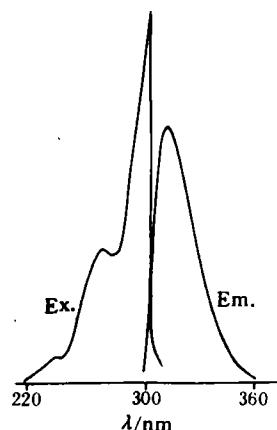


Fig 1. Excitation and emission spectra of estradiol valerate

1.3 线性范围

用无水乙醇配制戊酸雌二醇系列标准溶液,使含戊酸雌二醇为0.24~0.48 μg/ml,于 $\lambda_{ex}=295.0\text{ nm}$, $\lambda_{em}=308.0\text{ nm}$ (用0.1 μg/ml 硫酸奎宁校正狭缝至荧光强度为50.0)测定荧光强度,并扣除空白值,得回归方程为:

$$F = -5.76 + 177.62 C, r = 0.9990.$$

1.4 干扰因素考察

取不含戊酸雌二醇的空白溶液,按线性范围项下操作测定荧光强度为零。

1.5 回收率试验

取不含戊酸雌二醇的空白溶液,稀释后,加入不同量的戊酸雌二醇,按线性范围项下操作测定荧光强度,与戊酸雌二醇对照溶液相比。求回收率,结果见表1。

Tab 1. Recovery of estradiol valerate

Added, μg	Found, μg	Recovery, %	Mean Recovery, %	CV, %
2.40	2.45	102.2		
2.80	2.79	99.7		
3.20	3.24	101.3	100.8	1.0
3.60	3.61	100.2		
4.00	4.02	100.5		

1.6 戊酸雌二醇的荧光稳定性

取一份样品溶液,测定条件不变,室温下测定,6 h 内其荧光强度基本恒定,结果见表2。

Tab 2. Fluorescence stability test

Time, h	0.2	1	3	6
F	98.3	96.4	97.4	95.6

1.7 样品测定

用容量瓶取复方己酸孕酮注射液2 ml,无水乙醇稀释至100 ml,摇匀,取1.0 ml 该溶液,无水乙醇稀释至25 ml,得供试品溶液。

用无水乙醇配制4.0 μg/ml 的戊酸雌二醇对照溶液。

取供试品溶液和对照溶液各1.0 ml,分别用无水乙醇稀释至10 ml,按线性范围项下操作测定荧光强度,供试品与对照溶液荧光强度相比,计算样品中戊酸雌二醇的百分标示量。样品测定结果与 HPLC^[5]测定结果见表3。

Tab 3. Assay of estradiol valerate (n=3)

Batch No.	HPLC method ^[4]		This method	
	mean, %	CV, %	mean, %	CV, %
840906	100.1	5.0	98.1	1.9
850905	99.4	3.1	94.2	0.5
830704	85.0	2.5	86.6	0.6

2 讨论

根据表3测定结果,t 检验可知,本法与HPLC 方法测得戊酸雌二醇的含量基本一致,但本法测量精密度明显优于 HPLC 方法。

某一物质的激发波长及发射波长是该物质的特性,但在不同溶媒中,激发光谱和发射光谱的位置和强度都有差别。使用本法时,激发波长需校准,若激发波长低于 290 nm,己酸孕酮和赋形剂将吸收激发光,影响对戊酸雌二醇的准确定量。

本法样品处理简单,不经色谱分离,利用戊酸雌二醇的自然荧光特性,直接荧光法测定,灵敏度高、操作简便、结果可靠,为复方己酸孕酮注射液中戊酸雌二醇的定量提供了可行的方法。

参 考 文 献

- 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部. 化学工业出版社, 人民卫生出版社, 1985;193
- James T, Fluorometric determination of ethynodiol in tablets. *J Pharm Sci*, 1972; 61(8):1306
- Khoury AJ, Cali LJ, Automatic determination of ethynodiol in pharmaceutical preparations. *J Pharm Sci*, 1967; 56(11):1785
- 谢大年,葛建华,蓝琪田等. 长效甾体避孕药 RP-HPLC 流动相选择性优化及定量分析研究. 药学学报(待发表)

Use of Fluorospectrophotometry for Assay of Low Dosage Estradiol Valerate of Compound Hydroxyprogesterone Caproate Injection

Xie Danian, Ge Jianhua, Lan Qitian, Yu Rugu

Department of Analytical Chemistry

Natural-fluorescence method has been utilized to assay the estradiol valerate of compound hydroxyprogesterone caproate injection. The wavelength of excitation was 295 nm and that of emission was 308 nm. The calibration curve was linear in the range of 0.24~0.48 μg/ml ($r=0.9990$). The mean recovery was 100.8 (CV=1.0%, n=5).

Key words Fluorospectrophotometry; Compound hydroxyprogesterone caproate injection; Estradiol valerate