

消旋 15-甲基前列腺素 F_{2α} 甲酯的分析

罗 淑 荣

(中国医学科学院药物研究所分析室, 北京)

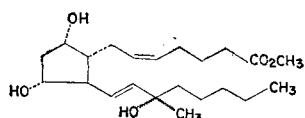


Fig 1. dl-15-Prostaglandin F_{2α} methyl ester

消旋 15 甲基前列腺素 F_{2α} 甲酯 (结构见图 1) 为前列腺素的衍生物。试用于临床作为终止妊娠药物⁽¹⁾, 在畜牧业上促进产仔, 增加奶量。

前列腺素的测定方法很多, 文献报道有高效液相层析法、气相层析-质谱法、放射免疫

法、放射性同位素法及薄层分析法等^(1,2,4~6)。

本品成本高, 临床用药剂量小, 为有效控制其质量, 需建立微量精确、简便的测定方法。本品在紫外区无特征吸收。将 15 位三级羟基脱水成双键, 则与 13 位双键形成共轭而显有紫外特征吸收峰 (见图 2)。本文研究了脱水条件及定量测定方法, 应用于样品分析、测定含量及其 15 位甲基 R, S 异构体的相对比例。方法简便快速, 为临床用药保证质量提供了依据。

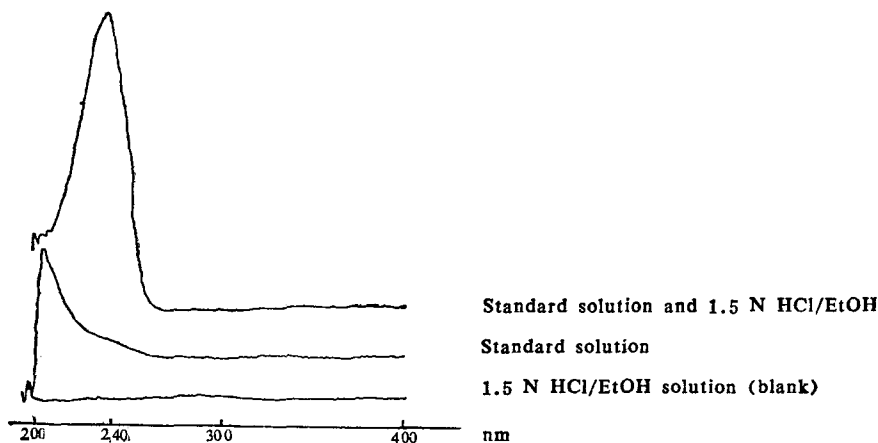


Fig 2. Absorption spectrum of dl-15-methyl-prostaglandin F_{2α} methyl ester

实 验 部 分

(一) 薄层层析

消旋 15 甲基前列腺素 F_{2α} 甲酯含有二对异构体, 测定时需预先在硅胶 G (薄层层析用, 青岛海洋化工厂) 薄层上以二氯甲烷-丙酮-环乙烷-甲苯 (4:6:3:0.2V/V) 上行展开, 使 15 位 R 与 S 异构体得到较好的分离。以碘蒸气显色定位。

(二) 测定条件

1. 酸度 取等量标准溶液 ($0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), 分别于 6 支 10 ml 具塞试管中, 加入不同浓度的盐酸乙醇溶液 5.0 ml 混匀, 置 30°C 恒温水浴中加热 1.5 小时, 放至室温, 于 239 nm 测定吸收度(图 3)。图 3 表明盐酸乙醇溶液的浓度在 1.5~2.0 N 时吸收度相近, 故选用 1.5 N 盐酸乙醇溶液为测定酸度。

2. 反应温度及时间 取等量标准溶液, 于 4 支 10 ml 具塞试管中, 分别加入 1.5 N 盐酸乙醇溶液 5.0 ml 后混匀, 于不同温度的恒温水浴中加热 1.5 小时后在 239 nm 测定吸收度, 结果表明温度在 30°C 时未出现杂峰(图 4)。

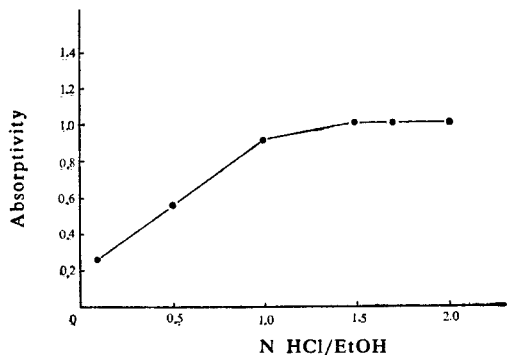


Fig 3. Relation between acidity and absorptivity of dl-15-methyl prostaglandin $F_{2\alpha}$ methyl ester

同上操作、温度保持在 30°C 水浴中加热不同时间观察其吸收度的变化, 结果如表 1。在 1~2 小时稳定。延长时间, 虽吸收度稍有增加, 但太费时。

(三) 回收试验

定量吸取标准溶液 $80 \mu\text{l}$, 点于薄层上, 按上述层析操作, 碘蒸气显色: 在薄层上复盖一玻璃板, 露出部分, 置于碘气缸中数分钟即取出, 15 R 及 S 斑点均显出黄色, 用针划出未显色部分相应的斑点位置(图 5)刮于具塞试管中, 分别加入 1.5 N 盐酸乙醇溶液 5.0 ml, 振摇提取 10 分钟后, 依上法操作(随行对照), 离心 20 分钟, 取上清液进行测定。回收率 98.3%(表 2)。

(四) 精密度试验

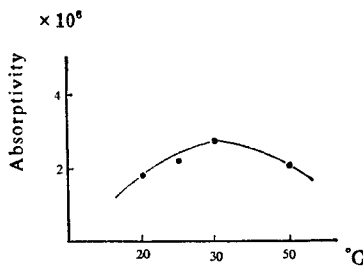


Fig 4. Effect of temperature on absorptivity of dl-15-methyl prostaglandin $F_{2\alpha}$ methyl ester

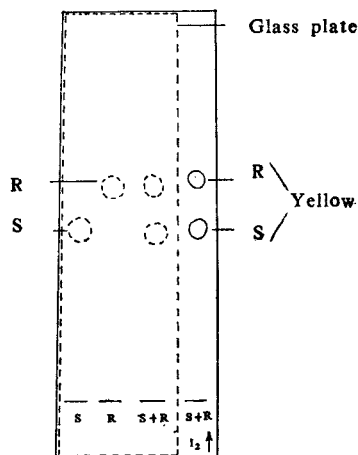


Fig 5. Chromatogram of dl-15-methyl prostaglandin $F_{2\alpha}$ methyl ester

Tab 1. Stability of dl-15- methyl $\text{PGF}_{2\alpha}$ methyl ester

Time of reaction (h)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	5.0
Absorptivity	0.432	0.446	0.447	0.447	0.450	0.458	0.478
	0.435	0.447	0.446	0.448	0.452	0.465	0.498

Tab 2. Recovery* of dl-15- methyl PGF_{2α} methyl ester

added (μg)	determined (μg)	recovery (%)
48.23	48.07	98.34
48.23	48.01	
48.23	48.18 47.43	
	45.48	

* Average of 4 data

取相同量样品溶液 20 μl 9 分, 同前法操作, 含量为 100.03 ± 0.4% 其变异系数为 0.49%。

(五) 样品分析

精密称取样品 1~3 mg 置 2 ml 容量瓶中, 以 95% 乙醇溶解并稀释至刻度。用微量注射器准确吸取此液 20~50 μl, 点于硅胶 G 薄层上, 依法进行薄层分离及紫外分光测定。比较标准品与样品的吸收度计算含量。结果见表 3。

Tab 3. Result of sample analysis

No	wt	S/R (%)	content (%)
811022-3*	69.32	38.9/61.1	96.65
811020-3*	55.02	56.4/43.6	96.32
800422-2**	54.75		99.54
820405-2	28.39		100.8

* sample contains both S and R isomers

** sample contains only S isomer

若测定样品中二对异构体总含量或样品中只含有一对异构体时, 可不通过薄层分离, 直接测定。

参 考 文 献

1. Karim S M M, et al: Prostaglandins. Pharmacology and clinical application. *Med Prog* 2:63, 1975
2. Panganarnal R V, et al: Assay of prostacyclin synthesis in intact aorta by aqueous sampling. *Prostaglandins* 21:1, 1981
3. Green K, et al: Method for quantitative analysis of PGF_{2α}, PGE₂, 9α, 11α-dihydroxy-15-keto-prost-5-enoic acid and 9α, 11α, 15-trihydroxy-prost-5-enoic acid from body fluids using deuterated carriers and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem* 54:434, 1973
4. Cornette J C, et al: Measurement of 15(s)-15-methyl prostaglandin F_{2α} by radioimmunoassay. *Prostaglandins (suppl)* 12:53, 1976
5. 王仲山等: 15-甲基前列腺素 F_{2α} 的衍生化高压液相层析. *药学报* 17:8, 1982
6. 金昭英等: 15 甲基前列腺素 F_{2α} 薄层分析简易定量分析法. *上海第一医学院学报* (5):66, 1978

ANALYSIS OF DL-15-METHYL PROSTAGLANDIN F_{2α} METHYL ESTER

LUO Shu-rong

*(Department of Analytical Chemistry, Institute of Materia
Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)*

ABSTRACT

This paper deals with the quantitative determination of dl-15-methylprostaglandin F_{2α} methyl ester by thin layer chromatography and subsequent reaction with HCl-EtOH solution. The method has been applied to synthetic samples. The proposed procedure is as follows:

Weigh accurately 1~3 mg of sample into a 2 ml bottle, add 2 ml of EtOH to dissolve. Spot 10~30 μg of the prepared sample solution on a silica gel G plate, develop with a mixture of dichloromethane—acetone—toluene—cyclohexane(4:6:0.2:3), locate the spots by iodine vapor and scrape into 10 ml glass stoppered test tubes. Add accurately 5.0 ml of 1.5 N HCl-EtOH solution, warm the mixture at 30°C for 1.5 h, cool to room temperature, centrifuge and take the supernatant liquid for spectrophotometric determination at 239 nm against a reagent blank.

The method is simple and rapid. The recovery of dl-15-methyl PGF_{2α} methyl ester is 98.3%.

Key word dl-15-Methyl prostaglandin F_{2α} methyl ester; Spectrophotometric method