

各降解杂质均在 230 nm 波长处有较大吸收,因而选用 230 nm 波长测定有关物质。

3.5 非对映异构体的检查

盐酸拉贝洛尔为一对非对映异构体, Carvalho^[7]、Bragg^[8]和 Geol^[9]等采用 LC-MS/MS、CEC-MS 和毛细管电泳法对盐酸拉贝洛尔非对映异构体的分离和测定进行了详细的研究, BP2012 版^[5]/EP7.0 版^[6]亦采用衍生化 GC 对非对映异构体的比例进行了控制。在本实验中,以单一色谱峰作为一种物质进行分析。

3.6 含量测定方法的选择

国家标准^[4]中采用高氯酸非水滴定法测定含量,使用了对环境污染大的醋酸汞试液。根据环保要求,标准提高过程中要求革除醋酸汞试液。考虑到 HPLC 具有分离分析的作用,能排除杂质干扰;盐酸拉贝洛尔具有紫外吸收,能提高方法的准确度与灵敏度,含量测定由高氯酸非水滴定法修改为 HPLC 外标对照品法,色谱条件同有关物质测定方法,结果方法的线性、准确度和精密

度均良好,测定结果与高氯酸非水滴定法一致。

REFERENCES

- [1] MEYERS F H, JAWETZ E, GOLDLIEN A. Lange Medical Publications [M]. Los Angeles: CA, 1980: 95-104.
- [2] GU T H, GU D G. The clinical pharmacological and toxicological progression of benzaminosalicylamidi hydrochloridum [J]. Chin J New Drugs Chin Rem(中国新药与临床杂志), 1984, 3(3): 28-30.
- [3] USP 34 [S]. 2011: 3255-3256.
- [4] WS-10001-(HD-0659)-2002, State Drug Standard(国家药品标准) [S]. 2002, 7: 212.
- [5] BP [S]. 2012: 1259-1260.
- [6] EP 7.0 [S]. 2011: 2327-2328.
- [7] CARVALHO T M, CAVALLI R C, MARQUES M P, et al. Stereoselective analysis of labetalol in human plasma by LC-MS/MS: application to pharmacokinetics [J]. Chirality, 2009, 21(8): 738-744.
- [8] BRAGG W, NORTON D, SHAMSI S A. Optimized separation of beta-blockers with multiple chiral centers using capillary electrochromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2008, 875(1): 304-316.
- [9] GOEL T V, NIKELLY J G, SIMPSON R C, et al. Chiral separation of labetalol stereoisomers in human plasma by capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr A, 2004, 1027(1/2): 213-221.

收稿日期: 2012-04-17

LC-MS/MS 分析有机磷农药中毒

陈立¹, 王凌¹, 王少明¹, 庄波阳², 陈鼎雄²(1.福建医科大学省立临床医学院/福建省立医院药学部, 福州 350001; 2.福建省药品检验所, 福州 350001)

摘要: 目的 建立一种同时检测人血浆中 9 种有机磷农药的高效液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)。方法 色谱柱为 Thermo C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温 25 °C, 流动相为乙腈-水(含 20 mmol·L⁻¹ 醋酸铵和 0.1%甲酸)(85:15), 流速 0.3 mL·min⁻¹。血浆样品采用乙腈沉淀蛋白, 质谱以正离子方式检测, 采用多重反应监测模式(MRM)。结果 9 种有机磷农药的线性范围为 0.05~10 μg·mL⁻¹, 定量下限为 0.05 μg·mL⁻¹, 检测限在 0.1~5 ng·mL⁻¹ 之间, 方法回收率在 93.23%~107.5% 之间, 批内、批间精密密度均 <10%, 稳定性良好。结论 该方法准确灵敏、简单快速, 可用于筛查、测定患者体内的有机磷农药, 有效辅助临床对中毒患者的诊断和疗效评价。

关键词: 血浆; 有机磷; 高效液相色谱串联质谱法; 检测

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)01-0090-06

Poison Analysis of Organophosphorus Pesticides by LC-MS/MS

CHEN Li¹, WANG Ling¹, WANG Shaoming¹, ZHUANG Boyang², CHEN Dingxiong²(1. Department of Pharmacy, Provincial Clinical College of Fujian Medical University/Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China; 2. Fujian Provincial Institute for Drug Control, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method(LC-MS/MS) to simultaneously determine nine organophosphorus pesticides in human plasma. **METHODS** The analytes were chromatographed on a Thermo C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column at 25 °C. The mobile phase was consisted of acetonitrile and water including

作者简介: 陈立, 男, 副主任药师 Tel: (0591)88216354 E-mail: chenhuang459105@yeah.net

20 mmol·L⁻¹ ammonium acetate and 0.1% formic acid (85 : 15) with a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹. The plasma samples were precipitated by acetonitrile. LC-MS/MS detection was made with an electrospray positive ionization and multiple reaction monitoring. **RESULTS** The calibration curves of each organophosphorus pesticide showed a good linearity in a range of concentration between 0.05–10 µg·mL⁻¹. Lower limit of quantitation was 0.05 µg·mL⁻¹ and the limits of detection were ranged from 0.1 to 5 ng·mL⁻¹. The recoveries were between 93.23% and 107.5%. The intra- and inter- batch precisions were less than 10% and the stability was good. **CONCLUSION** The method is proved to be accurate, sensitive, simple and fast. It can be used to screen and determine the organophosphorus pesticides in patients, which can effectively support the diagnosis and efficacy evaluation of poisoned patients in clinical practice.

KEY WORDS: plasma; organophosphorus pesticide; LC-MS/MS; determination

有机磷农药(organophosphorus pesticides, OPs)是农业和园艺使用最广泛的杀虫剂和除草剂,有时也在居家和工作场所中使用。有机磷农药毒性大,大剂量接触、误服或小剂量长期接触都易引发中毒,有机磷农药中毒在化学中毒事件中占了很大比例。目前临床判断患者是否有有机磷农药中毒主要通过接触史、临床表现、胆碱酯酶活度等,但这无法判定具体的中毒品种,更不能确定患者体内有机磷农药的浓度,给中毒患者的抢救带来很大困难。因此,快速准确性鉴别和反复定量测定患者体内的中毒物质及其含量对有机磷农药中毒患者,尤其对接触史不明确、症状不典型的患者的病情判断和疗效评价具有重要价值。

文献报道的血浆中有机磷农药的测定主要采用气相色谱-质谱法(GC-MS)^[1-3]或气相色谱法(GC)^[4],但其前处理多需使用固相微萃取(SPE),对于极性较强的物质还需进行衍生化,成本较高、过程繁琐,而且有机磷农药在 100 °C 以上易分解或异构化,GC 的高进样口温度会降低检测结果的准确性,使这些方法在临床的应用受到限制。本研究采用液相色谱-串联质谱技术(LC-MS/MS),沉淀蛋白法建立了人血浆中 9 种常见有机磷农药的定性定量方法,专属性强,准确度、灵敏度高,操作简捷。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1200 液相色谱/6410 三重四级杆质谱系统、MassHunter Workstation 液质工作站(美国 Agilent 公司); AB135-S 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); XW-80A 漩涡混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂); TG16-WS 台式高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

1.2 试剂

有机磷农药标准品(农业部环境保护监测所,含量≥98%); 乙腈(德国 Merck 公司,色谱纯); 甲酸、醋酸铵(上海试一化学试剂有限公司,分析纯); 实验用水为二次重蒸水。

2 方法

2.1 溶液的配制

对照品储备液:精密称取各农药 10 mg,分别加乙腈溶解并定容至 10 mL 量瓶中,作为对照品储备液。混合对照品溶液:分别精密量取各农药对照品储备液 5 mL,加乙腈溶解并定容至 100 mL 量瓶中,作为混合对照品储备液。取混合对照品储备液适量,用乙腈稀释并定容成系列浓度的混合对照品溶液。

2.2 血浆样品处理

取血浆 0.1 mL,置 1.5 mL 离心管中,涡旋 10 s,加入乙腈 0.2 mL,涡旋 3 min,16 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取 20 µL 上清液进 LC-MS/MS 系统分析。

2.3 色谱条件

色谱柱: Thermo C₁₈ (250 mm×6 mm, 5 µm); 流动相: 乙腈-水(含 20 mmol·L⁻¹ 醋酸铵和 0.1% 甲酸)=85 : 15; 流速: 0.3 mL·min⁻¹; 柱温: 25 °C; 进样量: 20 µL。

2.4 质谱条件

电喷雾电离,正离子模式(ESI⁺); 干燥气温度 300 °C; 干燥气流速 8 L·min⁻¹; 干燥气压力 40 psi; 毛细管电压 4 000 V; 室电流 4.5 µA; 扫描方式为多反应监测(MRM),离子对(1)和(2)同时用于定性,其中离子对(1)用于定量; 各有机磷农药的监测离子、碎裂电压和碰撞能见表 1。

表 1 各有机磷农药的监测离子、碎裂电压和碰撞能

Tab 1 Monitoring ions, fragmentation voltage and collision energy of each organophosphorus pesticide

有机磷	监测离子		碎裂电压/V	碰撞能/V
	离子对(1)	离子对(2)		
甲胺磷	142.1/94	142.1/112.1	135	10
敌敌畏	223/109	223/127.1	100	10
敌百虫	259/223.1	259/127.1	100	5
甲拌磷	261/75.1	261/244.3	100	15
甲基对硫磷	264.1/231.9	264.1/125	100	10
对硫磷	292.1/236	292.1/264	100	10
乐果	230/199	230/171.1	135	10
马拉硫磷	331.1/127.1	331.1/99.1	135	10
杀螟松	278/124.9	278/246.2	100	10

3 结果

3.1 定性标准

进行样品测定时,若样品色谱峰的保留时间与对照品加样血浆的保留时间一致,同时空白对照在相应保留时间下未出现两监测离子对的响应信号,而且样品谱图中各监测离子的相对丰度与浓度接近的同样条件下得到的对照品加样血浆的

谱图相比,最大允许相对偏差不超过相关文件^[5]中规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

3.2 专属性试验

比较空白血浆、9种农药对照品溶液以及空白血浆加9种农药对照品的色谱图,各有机磷农药的样品峰形对称,分离度良好,无杂质干扰测定。色谱图见图1。

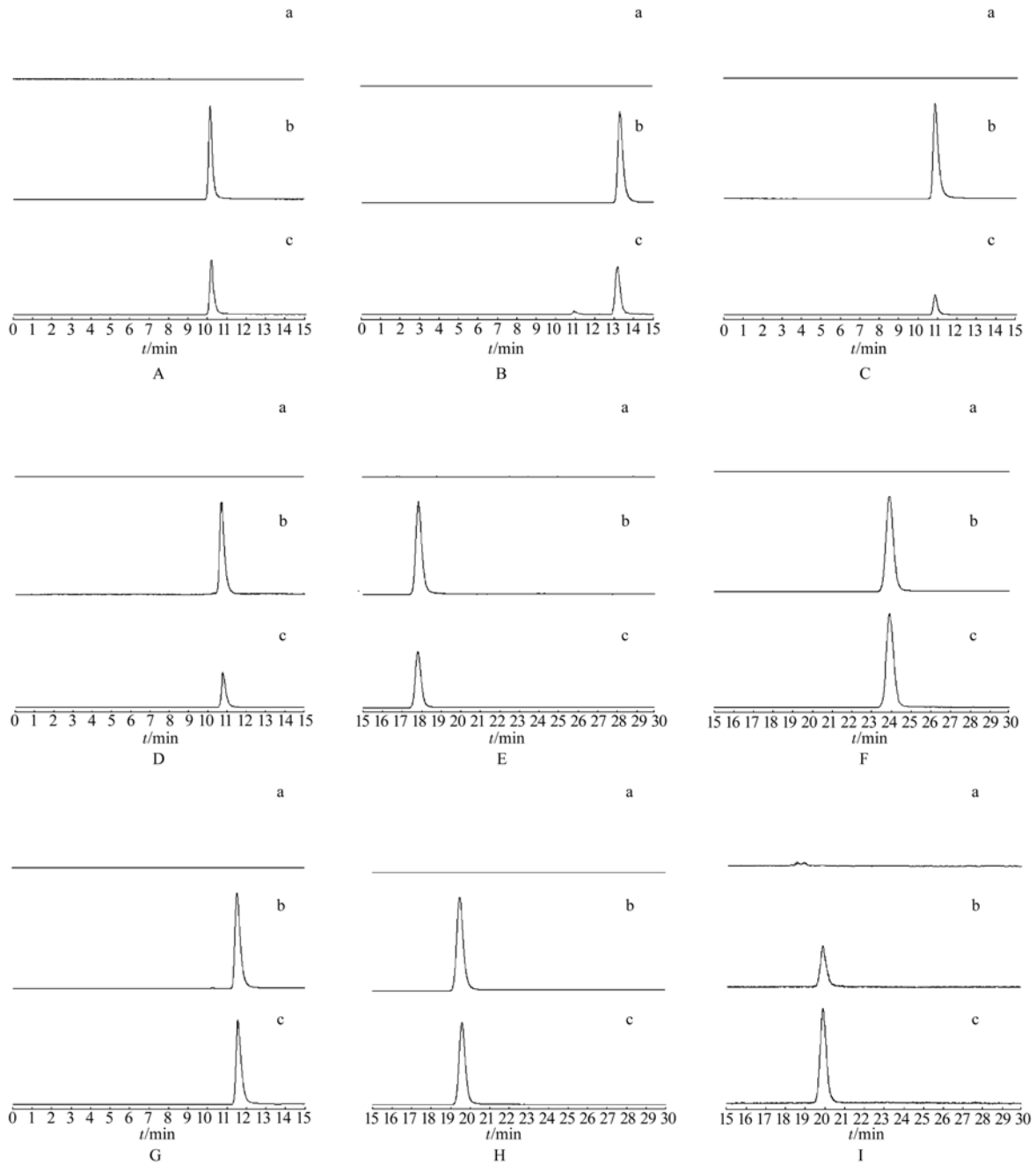


图1 LC-MS/MS 色谱图

a-空白血浆; b-对照品溶液; c-空白血浆+对照品; A-甲胺磷; B-敌敌畏; C-敌百虫; D-甲拌磷; E-甲基对硫磷; F-对硫磷; G-乐果; H-马拉硫磷; I-杀螟松

Fig 1 LC-MS/MS Chromatograms

a-blank plasma; b-reference solution; c-plasma spiked with organophosphorus pesticide; A-methamidophos; B-dichlorvos; C-trichlorfon; D-phorate; E-methyl parathion; F-parathion; G-dimethoate; H-malathion; I-fenitrothion

3.3 标准曲线与线性范围

分别取 0.1 mL 空白大鼠血浆, 精密加入适量有机磷农药溶液, 混匀, 得到浓度为 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 10.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血浆样品, 再分别按“2.2”项下操作, 记录色

谱峰面积。以各农药的血浆浓度(x)为横坐标, 峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 计算各农药的回归方程。各农药的标准曲线、线性范围、定量下限和检测限见表 2。

表 2 标准曲线、线性范围、定量下限和检测限

Tab 2 Calibration curves, linear range, limits of quantification and limits of detection

有机磷	标准曲线	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	定量下限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	最低检测限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
甲胺磷	$y=13\ 386x+5\ 310.8(r=0.999\ 0)$	0.05~10	0.05	0.1
敌敌畏	$y=13\ 555x-6.452\ 5(r=0.999\ 2)$	0.05~10	0.05	1
敌百虫	$y=7\ 324.2x+1\ 859.6(r=0.999\ 1)$	0.05~10	0.05	0.5
甲拌磷	$y=381.38x-36.135(r=0.999\ 8)$	0.05~10	0.05	20
甲基对硫磷	$y=5\ 319.8x-925.71(r=0.999\ 4)$	0.05~10	0.05	5
对硫磷	$y=56\ 980x-5\ 790.2(r=0.999\ 3)$	0.05~10	0.05	1
乐果	$y=135\ 266x+104\ 720(r=0.999\ 0)$	0.05~10	0.05	0.02
马拉硫磷	$y=380\ 307x+194\ 381(r=0.999\ 1)$	0.05~10	0.05	0.02
杀螟松	$y=4\ 666.6x+202.32(r=0.999\ 5)$	0.05~10	0.05	5

3.4 精密度试验

另取试管加空白血浆, 分别加入系列浓度的各有机磷农药对照品溶液, 制备浓度分别为 0.10, 1.00, 4.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血浆样品后按“2.2”项下操作, 并同时制备 1 条随行标准曲线, 连续测定 3 d, 共 3 批, 每批每个浓度测定 5 份样品, 记录色谱峰面积, 根据当日随行标准曲线方程, 求得每份样品中各农药的浓度, 计算批内、批间精密度, 结果见表 3。结果显示, 该方法批内、批间精密度均<10%, 精密度均良好。

表 3 回收率与批内、批间精密度

Tab 3 Recoveries and intra- and inter- batch precisions

有机磷	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	方法回收率		提取回 收率/%	批内精 密度/%	批间精 密度/%
		回收率/%	RSD/%			
甲胺磷	0.10	97.44	5.4	97.29	7.5	8.5
	1.00	103.0	4.1	99.51	5.1	6.1
	4.00	100.3	2.5	100.1	2.3	4.4
敌敌畏	0.10	97.64	7.4	96.04	7.1	7.7
	1.00	94.67	4.7	92.26	4.9	6.9
	4.00	99.39	1.6	97.59	2.5	3.5
敌百虫	0.10	99.61	4.6	98.04	6.8	7.1
	1.00	100.6	3.5	99.18	6.2	6.9
	4.00	98.27	3.2	96.00	3.9	4.5
甲拌磷	0.10	107.5	6.1	96.88	9.1	9.3
	1.00	93.23	3.7	91.88	6.9	7.9
	4.00	104.4	2.2	93.98	4.3	5.3
甲基对硫磷	0.10	102.7	4.8	97.80	7.3	7.9
	1.00	99.25	3.7	97.29	5.8	6.1
	4.00	98.73	2.6	95.79	4.3	5.6
对硫磷	0.10	97.91	4.9	97.46	6.7	7.0
	1.00	100.3	3.8	98.90	6.5	6.6
	4.00	99.72	3.5	95.89	5.9	6.2
乐果	0.10	100.1	4.5	99.10	5.2	5.5
	1.00	99.82	4.6	99.02	4.8	5.0
	4.00	101.5	1.8	94.88	2.9	3.2
马拉硫磷	0.10	100.3	5.0	96.89	6.0	6.4
	1.00	99.88	4.2	98.64	3.8	4.2
	4.00	100.1	2.0	92.42	2.1	3.7
杀螟松	0.10	104.7	5.6	100.5	8.7	9.0
	1.00	99.16	3.5	93.70	6.8	7.3
	4.00	97.53	2.9	96.78	3.7	4.2

3.5 方法回收率试验

另取试管加空白血浆, 分别加入系列浓度的各有机磷农药对照品溶液, 制备浓度分别为 0.10, 1.00, 4.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血浆样品后按“2.2”项下操作, 记录色谱图, 依据当日随行标准曲线方程计算每份样品中各农药的浓度, 测得浓度与配制浓度的比值即为方法回收率, 结果见表 3。

3.6 提取回收率试验

制备浓度分别为 0.10, 1.00, 4.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的水溶液样品, 各取 0.1 mL, 加入乙腈 0.2 mL, 混合, 进样分析, 记录色谱峰面积($A_{\text{水}}$)。另用空白血浆配制浓度为 0.10, 1.00, 4.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血浆样品, 按“2.2”项下操作, 记录峰面积($A_{\text{血}}$), 提取回收率= $A_{\text{血}}/A_{\text{水}}$, 结果见表 3。

3.7 稳定性试验

取空白血浆, 分别加入系列浓度的各有机磷农药对照品溶液, 制备浓度分别为 0.10, 1.00, 4.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血浆样品, 室温放置 0, 12 h、反复冻融 3 次和 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存 14 d, 再分别按“1.3”项下操作, 记录色谱峰面积, 结果表明样品浓度无明显变化, 稳定性良好, 结果见表 4。

表 4 稳定性实验结果

Tab 4 Results of stability tests

有机磷	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	相对含量/%			
		0 h/%	12 h/%	反复冻融 3 次/%	冷冻 14 d/%
甲胺磷	0.10	102.5	96.32	98.67	98.22
	1.00	101.2	101.5	97.23	97.06
	4.00	98.72	103.2	100.4	102.3
敌敌畏	0.10	97.58	101.6	96.73	98.02
	1.00	99.24	97.24	100.8	97.68
	4.00	102.2	96.89	100.5	99.92
敌百虫	0.10	101.3	100.6	98.35	98.67
	1.00	99.15	100.3	99.28	99.14
	4.00	97.81	99.79	101.3	100.1
甲拌磷	0.10	100.3	92.58	105.0	99.4
	1.00	97.05	106.3	96.16	102.1
	4.00	105.6	102.8	98.76	97.57
甲基对硫磷	0.10	101.2	101.1	103.9	95.76
	1.00	99.70	99.89	99.30	97.95
	4.00	98.13	97.15	98.67	100.5
对硫磷	0.10	101.9	100.3	100.4	99.83
	1.00	99.55	99.38	99.04	97.65
	4.00	97.64	101.1	98.92	99.90
乐果	0.10	100.7	101.8	100.2	99.93
	1.00	99.48	99.35	98.95	97.91
	4.00	98.27	99.87	101.6	100.2
马拉硫磷	0.10	99.23	99.10	99.08	99.07
	1.00	99.10	99.05	99.01	100.9
	4.00	101.0	100.6	98.38	99.85
杀螟松	0.10	101.2	101.7	101.0	99.46
	1.00	99.70	99.89	99.30	97.82
	4.00	96.98	102.2	96.59	100.1

4 讨论

4.1 前处理方法的选择

文献报道的有机磷农药血样前处理法主要为固相萃取法^[1-4], 固相萃取柱为耗材, 一般十几到几十元一支, 成本较高, 且涉及活化、上样、淋洗、洗脱等过程, 较为繁琐、耗时, 所以应用于临床检测, 可能增加住院费用, 耽误抢救时机。

因此, 本实验尝试甲醇、乙腈沉淀蛋白法和乙酸乙酯、乙醚等溶剂液液萃取法对血样进行前处理, 发现采用乙腈处理血样, 回收率、准确性理想, 而且价格低廉、步骤简捷, 在中毒的紧急情况下能缩短分析时间, 降低成本, 所以最终选择该法处理血浆样品。

4.2 色谱和质谱条件的优化

有机磷农药结构中含有磷酸酯基团, 在色谱柱上的保留较强, 较难洗脱。当在流动相中添加醋酸铵后, 其保留时间明显缩短, 峰形得到显著的改善。试验初期曾采用负离子检测模式, 结果表明负离子形成的少, 灵敏度不高。采用正离子模式, 实验过程尝试加入甲酸, 显著增加了样品的离子化效率。进一步优化质谱条件, 分别考察干燥气流速、裂解电压、碰撞能等条件对有机磷农药离子响应的影响, 选择各有机磷农药响应最大时的条件为质谱的最优条件。

4.3 有机磷农药血浓度的监测意义

本实验建立了一种以沉淀蛋白为前处理方式、多反应监测为质谱扫描模式的同时测定血样中 9 种有机磷农药含量的 HPLC-MS/MS 法。该测定方法具有较好的回收率和精密度, 检测限低, 方法简便、灵敏、准确, 适用于有机磷农药中毒等突发事件的快速鉴定和定量测定。

通过监测患者体内的有机磷农药浓度可有效帮助医生判断病情轻重, 对有机磷农药中毒的诊断和正确治疗有很好的指导作用。国内外对洗胃、血液灌流, 使用阿托品、氯磷定等措施用于有机磷及其混合农药中毒常常仅凭临床经验和患者症状, 缺乏客观的定量指标, 难以掌握洗胃次数, 灌流时间, 吸附剂或解毒药的用量。但是, 根据血浆、胃内容物等有机磷农药浓度的监测结果, 可以制定个体化的解救方案, 结合病情适时、准确地选择抢救方法, 用药剂量等, 既可提高毒物的清除效率, 又能减少洗胃、血液灌流的不良反应, 降低阿托品使用过量造成的中毒、反跳、中间综合征的发生率^[6-8]。

REFERENCES

- [1] LIU J, HE B Y, SUN J H. Determination method for organophosphorus pesticides and tetram in serum and blood by GC/MS with SPE sample cleanup [J]. Chin J Health Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2005, 15(9): 1025-1029.
- [2] LI W H, ZHU L S. Determination method for 10 categories insecticides and rodenticides in blood by GC/MS with SPE [J].

- Chin J Forensic Med(中国法医学杂志), 2009, 24(4): 269-271.
- [3] LIU J, HE B Y, SUN J H. Determination method for 25 organophosphorus pesticides in serum and whole blood by GC/MS with SPE sample cleanup [J]. Mod Prev Med(现代预防医学), 2005, 32(9): 1240-1244.
- [4] WANG X W, ZHANG S R, PEI X P, et al. Determination of organochlorine and pyrethroids pesticide residues in Forsythiae Fructus from Shanxi province by GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(10): 938-941.
- [5] Commission of European Communities. 2002/657/EC [S]. http://www.wetgiw.gov.pl/old/UE/prowo/02_657/e02657.pdf.
- [6] CAO G H, WANG X P, ZHOU Y, et al. Clinical effects of testing the concentration of organophosphorus pesticides in serum [J]. Med Res Educ(医学研究与教育), 2010, 27(3): 16-17.
- [7] JIN Y J, CHEN Y J, ZHANG J P, et al. Determination of organophosphorus mixed pesticides in blood and experimental study on its hemoperfusion clearance [J]. Chin J Health Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2008, 18(7): 1237-1238.
- [8] WANG X P, CAO G H, et al. The role of therapeutic drug monitoring in acute organophosphorus pesticides poisoning [J]. Shangdong Med J(山东医药), 2010, 50(9): 96.

收稿日期: 2012-02-20

HPLC 测定炔雌醚含量和有关物质

石云峰¹, 李会林¹, 林丽琴²(1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004; 2.杭州市药品检验所, 杭州 310017)

摘要: 目的 建立 HPLC 测定炔雌醚含量和有关物质的方法。方法 采用 C₁₈ 柱, 以甲醇-水(90:10)为流动相; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 279 nm。结果 炔雌醚的线性范围为 0.078 8~0.788 4 mg·mL⁻¹(*r*=1.000 0), 平均回收率为 99.9%, RSD 为 0.80%(*n*=9), 炔雌醚检测限浓度为 0.06 μg·mL⁻¹。结论 该方法简便、准确、专属性强, 可作为产品质量检测方法。
关键词: 炔雌醚; 高效液相色谱法; 有关物质

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2013)01-0095-04

Determination of Quinestrol and Its Related Substances by HPLC

SHI Yunfeng¹, LI Huilin¹, LIN Liqin²(1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for content determination of quinestrol and its related substances. **METHODS** A C₁₈ column was used with the mobile phase of water-methanol(90:10). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was 279 nm. **RESULTS** The calibration curve of quinestrol was linear in the range of 0.078 8~0.788 4 mg·mL⁻¹(*r*=1.000 0), and the average recovery was 99.9%, RSD was 0.80%(*n*=9). The detection limit of quinestrol was 0.06 μg·mL⁻¹. **CONCLUSION** The method is rapid, accurate and reliable for content determination of quinestrol and related substances.

KEY WORDS: quinestrol; HPLC; related substance

炔雌醚为作用较强的口服长效雌激素^[1], 查阅国内外药品标准, 炔雌醚仅收载于中国药典 2005 年版中, 且标准中无有关物质检查项目, 含量测定采用紫外分光光度法^[2], 为了更好地控制炔雌醚的质量, 在中国药典 2010 年版二部该品种质量标准起草过程中, 本研究建立了高效液相色谱法测定炔雌醚含量和有关物质, 方法简便、快速、准确, 可作为炔雌醚含量及有关物质的有效测定方法。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪、二极管阵列检

测器(日本岛津仪器有限公司); 炔雌醚对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100048-200902, 供含量测定用, 80 °C 干燥 2 h 后使用, 按 C₂₅H₃₂O₂ 计, 供 HPLC 测定, 含量为 98.0%; 供 UV 测定, 含量为 100.0%); 炔雌醇对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100053-200705, 含量为 100.0%); 炔雌醚为国内药厂产品(批号: 090701, 090702, 090703); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品配制

作者简介: 石云峰, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0571)86459422

E-mail: lin-net@163.com