

· 药物分析与检验 ·

用 HPLC 法同时测定皮肤渗透液中 18-甲基炔诺酮和雌二醇的含量

王 俏 叶金翠 陈国神 (浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

摘要 用 HPLC 法同时测定皮肤渗透液中 18-甲基炔诺酮和雌二醇的含量。色谱柱: Shim-Pack CLC-ODS, 检测波长: 280 nm (0—7.20 min), 242 nm (7.21—8.90 min), 流动相: 甲醇—水 (75:25)。线性范围均为 0.2~4.0 $\mu\text{g/ml}$ ($r_{\text{LNG}}=0.9999$, $r_{\text{E}_2}=0.9998$); 最低检测量 LNG 为 1 ng, E_2 为 5 ng; LNG 与 E_2 在等浓度条件下平均回收率分别为 LNG 100.64 \pm 0.75%, E_2 99.99 \pm 0.84%; 日内 RSD 分别为 LNG 0.44%, E_2 1.06%; 日间 RSD 分别为 LNG 0.78%, E_2 1.30%。该方法简便、快速, 结果准确。

关键词 18-甲基炔诺酮 雌二醇 皮肤渗透 高效液相色谱法

含 18-甲基炔诺酮 (LNG) 和雌二醇 (E_2) 的双控释透皮传递系统是国内外避孕药物控释新剂型研究的热点之一^[1]。国内已开展 LNG 或 E_2 单一成分的人体皮肤渗透液浓度测定及其渗透动力学研究^[2,3,4], 但未见同时检测 LNG/ E_2 二成分的研究报道。为了研究 LNG/ E_2 双控释透皮传递系统的药物渗透特性, 我们建立了能同时检测二个不同吸收波长的药物渗透量的高效液相色谱法。方法简便、快速、结果准确。

1 仪器与试剂:

1.1 仪器: Shimadzu LC-10A 高效液相色谱仪, CTO-10A 恒温柱箱, SPD-10A 紫外检测器, C-R6A 数据处理机, DGV-4A 脱气仪。

1.2 试剂: 甲醇 (上海吴泾化工厂, HPLC 试剂); 重蒸馏水 (新鲜制); 聚乙二醇 (进口分装), 雌二醇 (上海第十二制药厂); 18-甲基炔诺酮 (扬州制药厂)

2 色谱条件: Shim-Pack CLC-ODS 柱 (6.0 mm \times 15 cm); 柱温: 370°C; 流动相: 甲醇—水 (75:25); 流速: 1 ml/min; 检测波长: 280 nm (0—7.20 min), 242 nm (7.21—8.90 min); 灵敏度: 0.01 AUFS; 记录仪纸速: 2 mm/min; 进样量: 20 μl 。

3 实验方法与结果

3.1 吸收光谱的测定: 以流动相为溶剂, 配制成约

20 $\mu\text{g/ml}$ 的 18-甲基炔诺酮与雌二醇对照品溶液, 以流动相为空白, 在波长 190~370 nm 范围内扫描, 分别得到 LNG 与 E_2 的紫外吸收光谱图, 见图 1。我们选择 LNG 的吸收波长为 242 nm, E_2 的吸收波长为 280 nm。变动不同波长的空白色谱图见图 2。

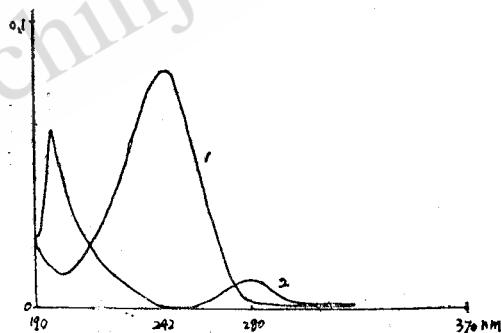


图 1 曲线 1 为 LNG 的紫外吸收光谱
曲线 2 为 E_2 的紫外吸收光谱



图 2 变动不同波长的空白色谱图

在选定条件下测得 LNG/E₂ 色谱图, 见图 3。

3.2 标准曲线的制备: 精密称取 LNG、E₂ 各 4mg, 置 100 ml 容量瓶中, 配制系列不同浓度的 LNG/E₂ 溶液, 使溶液分别为 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 μg/ml, 在上述条件下进样 20 μl, 记录色谱峰面积, 以

峰面积为纵座标, 浓度为横座标, 绘制标准曲线。得 LNG 的回归方程为: $Y = 24771x - 74$, $r = 0.9999$; E₂ 的回归方程为: $Y = 3737x + 31$, $r = 0.9998$ 。

LNG 与 E₂ 的最低检测量分别为 LNG 1 ng, E₂ 5 ng。

LNG 和 E₂ 的理论塔板数分别为 8300, 6500。

3.3 回收率试验: 精密吸取一定量的 LNG/E₂ 对照液于 10 ml 容量瓶中, 分别加皮肤渗透液至刻度, 配制成含 LNG/E₂ 均为 0.3、0.5、0.8、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 μg/ml 及 E₂ (或 LNG) 浓度不变 (2.0

μg/ml) 时, LNG (或 E₂) 为 0.2、0.4、0.8、1.0、1.6、2.0、3.2、4.0 μg/ml 的溶液, 照标准曲线项下操作, 以峰面积计算 LNG 和 E₂ 的回收率。

结果为: LNG 与 E₂ 在等浓度条件下平均回收率分别为 LNG 100.64 ± 0.75%, E₂ 99.99 ± 0.84%; 在 LNG 不同浓度条件下, LNG 与 E₂ 的回收率分别为 LNG 99.31 ± 0.88%, E₂ 100.95 ± 0.95%; 在 E₂ 不同浓度条件下, LNG 与 E₂ 的回收率分别为 LNG 99.41 ± 1.38%, E₂ 100.74 ± 0.92%。

3.4 精密度试验:

精密吸取一定量的 LNG/E₂ 对照液于 10ml 容量瓶中, 分别加皮肤渗透液至刻度, 配制成含 LNG/E₂ 为 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 μg/ml 5 个不同浓度的溶液。同日内测定日内误差, 连续 3 d 测定日间误差。结果, 日内 RSD 分别为 LNG 0.44%、E₂ 1.06%; 日间 RSD 分别为 LNG 0.78%, E₂ 1.30%。

3.5 样品的测定: 经 Valia-Chien 双室渗透池得到的含有 LNG/E₂ 的皮肤渗透液样品, 按本法测

定, LNG 与 E₂ 的分离效果良好, 结果见图 4。采用本分析体系测定了 1000 多个样品, 测定结果令人满意。

4 小结

本实验因系 统控 制器自动变换波长, 利用 E₂ 与 LNG 出峰时间不同 (甲醇-水为 75:25 时, E₂ 的出峰时间约为 6.6 min, LNG 约为 8.2 min), 在 0~7.20 min 时为 280 nm, 7.21~8.90 min 时为 242 nm, 使 E₂ 与 LNG 同时检测出, 完成一次分析时间只需 9 min, 缩短了近一倍的实验时间与样品量。具有灵敏度高, 快速准确等优点, 可用于 LNG/E₂ 复方透皮控释制剂的研制与质量控制。

图 4 样品中 LNG/E₂ 的色谱图 1 为 E₂, 2 为 LNG

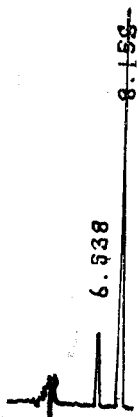
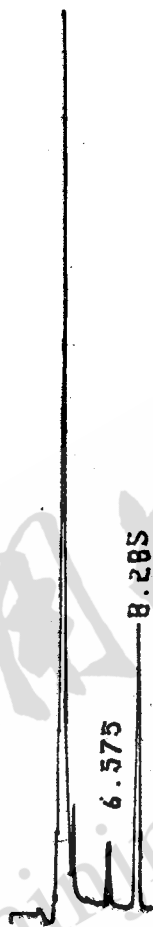


图 3 LNG/E₂ 色谱图。1 为 E₂, 2 为 LNG



8.285

6.575

参 考 文 献

- 1 Chien YW, Chien TY, Bagdon RE, et al. Transdermal Dual-Controlled Delivery of Contraceptive Drugs. Pharm Res., 1989, 12:1000-1010.
- 2 陈国神等. 18-甲基炔诺酮左旋体与消旋体的人体皮肤体外渗透率. 中国药理学报, 1991, 12(5): 437
- 3 陈国神等. 人体不同部位皮肤的雌二醇体外渗透率. 中国药理学报, 1990, 11(1): 57
- 4 周蓉蓉等. 皮肤渗透液中雌二醇含量的高效液相色谱法测定. 药物分析杂志, 1990, 10(1): 41

收稿日期: 1994-01-25

Simultaneous Determination of Levonorgestrel and Estradiol in Receptor

Liquid of Skin Permeation by HPLC

Wang Qiao, Ye Jincui, Chen Guoshen

(Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences,
Hangzhou 310013)

Abstract HPLC method was developed for simultaneous determination of levonogestrel and estradiol in receptor liquid of skin permeation. Chromatographic conditions were as follows: instrument, Shimadzu LC-10A; column, Shim-Pack CLC-ODS (15 cm×6.0 mm); mobile phase, MeOH:H₂O (75:25, V/V); detector wavelength, 280 nm (0-7.20 min), 242 nm (7.21-8.90 min). The calibration curves were linear in the range of 0.2-4.0 μg/ml for LNG and E₂ were 100.64 ± 0.75% and 99.99 ± 0.84% respectively. The coefficient of variation of intraday was 0.44% for LNG, 1.06% for E₂, and that of interday was 0.78% for LNG and 1.30% for E₂. The detection limits for LNG and E₂ were 1 ng and 5 ng respectively. The method is simple, rapid and accurate.

Key words Levonogestrel Estradiol Skin permeation HPLC

(on page 38)