

## 高效液相色谱法测定烯丙雌醇片的有关物质

贾 飞<sup>1</sup>, 汪卫军<sup>2</sup>

(1. 浙江省食品药品检验所, 浙江 杭州 310004; 2. 浙江仙琚制药技术开发有限公司 浙江 杭州 310005)

**摘要** 目的 建立烯丙雌醇片的有关物质检查方法。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法, 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(95:5), 检测波长为 210 nm, 流速为 1.5 mL/min。结果 烯丙雌醇与强制破坏产生的降解产物的杂质峰分离良好, 最低检出量为 0.81 ng。结论 HPLC 法准确、灵敏、专属性强, 可用于烯丙雌醇的有关物质检查。

**关键词** 烯丙雌醇; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号 R927.11 R977.1+2

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2009)15-0030-02

## Determination of Related Substances of Allylestrenol Tablets by HPLC

Jia Fei<sup>1</sup>, Wang Weijun<sup>2</sup>

(1. Zhejiang Institute of Food and Drug Control, Hangzhou, Zhejiang, China 310004;

2. Zhejiang Xianju Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Hangzhou, Zhejiang, China 310005)

**Abstract: Objective** To establish a method to determine the related substances of Allylestrenol Tablets. **Methods** HPLC was used and the chromatography condition was determined. The system was carried out using Diamonsil C<sub>18</sub> column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) and the mobile phase of acetonitrile-water (95:5) with the flow rate of 1.5 mL/min and the detection wavelength of 210 nm. **Results** The resolution between the peak of allylestrenol and other peaks was good. The limit of detection was 0.81 ng. **Conclusion** The method is specific, accurate and sensitive, which can be used for the determination of allylestrenol.

**Key words** allylestrenol; related substance; HPLC

烯丙雌醇(allylestrenol)属 17α 羟基孕激素类药物, 是一种综合性能较好的保胎药, 临床上单独服用的疗效优于传统保胎药<sup>[1]</sup>。其含量测定方法已有文献报道<sup>[2]</sup>, 但尚未见其有关物质测定方法的报道。为严格、有效地控制药品质量, 笔者通过选择高效液相色谱(HPLC)条件, 研究并建立了测定烯丙雌醇片有关物质的方法, 并且通过选择适合的溶剂避免了辅料在短波长处的干扰。该方法操作简单, 测定快速、准确, 现报道如下。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, DAD 检测器。烯丙雌醇片(规格为 5 mg/片, 批号分别为 20050901, 20050902, 20050903, 浙江仙琚制药股份有限公司), 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

## 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(95:5); 检测波长: 210 nm; 流速: 1.5 mL/min。

## 2.2 溶液制备

取本品细粉适量, 加乙醇溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含烯丙雌醇 1.0 mg 的溶液, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。精密量取供试品溶液适量, 加乙醇稀释制成 10 μg/mL 的溶液, 作为对照溶液。

## 2.3 专属性试验

取本品细粉适量(约相当于烯丙雌醇 10 mg), 分别置 10 mL 量瓶中, 按以下顺序操作。

**强酸破坏试验** 加流动相少量, 超声处理 2 min, 加 3 mol/L 的盐酸溶液 2 mL, 室温放置 2 h, 中和, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 进样 20 μL, 记录色谱图。

**强碱破坏试验** 加流动相少量, 超声处理 2 min, 加 3 mol/L 的氢氧化钠溶液 2 mL, 室温放置 2 h, 中和, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 进样 20 μL, 记录色谱图。

**热破坏试验** 加流动相适量溶解, 置 80℃ 水浴 2 h, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 进样 20 μL, 记录色谱图。

**氧化破坏试验** 加流动相少量, 超声处理 2 min, 加 30% 过氧化氢溶液 2 mL, 室温放置 2 h, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 进样 20 μL, 记录色谱图。

**光照破坏试验** 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 置 5 000 lx 光下照射 10 h, 滤过, 取续滤液, 进样 20 μL, 记录色谱图。

由图 1 可见, 本品经酸、碱、氧化、光照及热破坏后, 产生的杂质峰均能与主峰基线分离, 说明该色谱系统能有效检测杂质。

## 2.4 最低检出量确定

取样品, 用流动相溶解并逐步稀释, 上机测定, 至峰高约为基线噪音的 3~5 倍, 得烯丙雌醇的最低检出量为 0.81 ng。

## 2.5 稳定性考察

取同一供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 4, 6 h 时进样测定。结果杂质含量的 RSD 为 0.3%, 表明供试品溶液在 6 h 内稳定。

## 2.6 有关物质检查方法

精密量取对照溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 10%; 再分别精密量取对照溶液与供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 4 倍。供试品溶液色谱图中, 量取除溶剂峰和 α-生育酚峰的其他各杂质峰峰面积, 其和不得大于对照溶液主峰峰面积的 2 倍(2.0%)。

## 2.7 样品测定

取样品 3 批, 按“溶液制备”及“有关物质检查方法”项下方法制备供试品溶液, 测定有关物质。结果批号为 20050901, 20050902, 20050903 的 3 批样品中有关物质含量分别为 0.8%, 0.7%, 0.8%。

## 3 讨论

经 DAD 检测, 烯丙雌醇及其降解产物均仅有末端吸收, 为尽

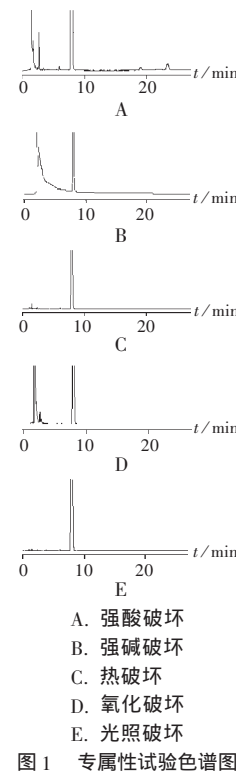


图 1 专属性试验色谱图

正交试验法优选烧伤膏中醇提部分的提取工艺

康军民<sup>1</sup>,任卫琼<sup>2</sup>

(1. 湖南省湘潭市韶山医院,湖南 湘潭 411105; 2. 湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙 410007)

**摘要:**目的 考察烧伤膏中醇提部分的提取工艺。方法 采用正交试验设计法,以浸膏得率、大黄素转移率为考察指标,优选提取工艺条件。结果 提取因素按影响大小依次是乙醇浓度(A)>乙醇量(B)>回流时间(C),最佳提取条件是以85%乙醇为溶剂,加热回流提取2次,加醇量分别为药材量的8倍和6倍,提取时间分别为2h和1.5h。结论 优化出的醇提部分的最佳提取工艺合理可行。

**关键词:** 烧伤膏;浸膏得率;大黄素;正交试验;提取工艺

中图分类号:TQ461 文献标识码:A 文章编号:1006-4931(2009)15-0031-02

Optimized Extracting Technology of Ethanol Extracting Ingredients from Burns Ointment by Orthogonal Test Design

Kang Junmin<sup>1</sup>, Ren Weiqiong<sup>2</sup>

(1. Shaoshan Hospital of Xiangtan City, Xiangtan, Hunan, China 411105; 2. First Affiliated Hospital, Hunan University of TCM, Changsha, Hunan, China 410007)

**Abstract: Objective** To observe the extracting technology of the ethanol extracting ingredients from Burns Ointment. **Methods** Using the emodin shift rate and extracting rate as indexes, the optimum extracting condition were optimized by orthogonal test design. **Results** The order of influencing factors for extraction was the concentration of ethanol(A) added ethanol volume(B) extracted times(C). The optimal extracting condition was 85% ethanol as solvent, reflux extracting twice, adding ethanol with 8 times and 6 times amount of medicinal materials, extracting time 2 h, 1.5 h respectively. **Conclusion** The optimal extracting technology for ethanol extracting ingredients from Burns Ointment is reasonable and feasible.

**Key words:** Burns Ointment; extracting rate; emodin; orthogonal test; extracting technology

烧伤膏由黄连、大黄、虎杖、地榆、栀子、红花、白芷、白及、冰片等9味中药组成,具有清热泻火、活血化瘀、消肿止痛、排脓生肌的功效,外用于治疗烧、烫伤。根据各味药所处地位和药物的物理化学性质,拟将该方中各味药物采用合适的方法提取。笔者用正交试验优选方中药物的醇提工艺,以浸膏得率及大黄素转移率为评价指标,寻找最佳的提取工艺条件。

1 仪器与试药

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);AY-120 型电子分析天平(日本岛津);WH-I 微型旋涡混合器(上海沪西分析仪器厂有限公司);大黄素对照品(中国药品生物制品检定所);药材(购自湖南省药材公司);甲醇(色谱纯);磷酸(优级纯);水(自制重蒸馏水);其他试剂(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计

在查阅大量文献及预试验的基础上,选择对提取物收率影响较大的乙醇浓度(因素A)、乙醇量(因素B)、回流时间(因素C)作为考察因素,以浸膏得率及大黄素转移率为评价指标,用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表安排试验方案,因素水平见表1。

2.2 浸膏得率

精密吸取各次提取液50 mL,置恒重的蒸发皿中,于水浴上蒸

量减少辅料及溶剂的干扰,选择210 nm为检测波长。从各降解物的DAD色谱图可知,各杂质均在主峰的4倍保留时间内出峰,故记录时间为主峰保留时间的4倍。由于选择在210 nm波长处测定,且本品规格小,辅料量大,干扰影响也大。取处方量辅料,分别用流动相和乙醇为溶剂,按样品操作方法操作。结果表明,以流动相为溶剂,在保留时间约2 min前有辅料峰,而以乙醇为溶剂时,仅有溶剂峰,辅料无干扰,故选择对烯丙醇易溶、对辅料难溶的乙醇为溶剂。

作者简介:贾飞(1979-),男,主管药师,硕士,主要从事药品

表1 因素水平表

因素水平	因素 A(%)	因素 B(倍)	因素 C(h)
1	75	6	1.0
2	85	8	1.5
3	95	10	2.0

干,105℃下干燥3h,移至干燥器中冷却30 min,迅速精密称重,计算浸膏得率。

2.3 大黄素含量测定<sup>[1]</sup>

2.3.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(85:15);检测波长:254 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30℃。

2.3.2 溶液制备

精密量取各次提取液适量,置10 mL离心管中,精密加入适量无水乙醇,摇匀,以3 000 r/min离心处理15 min,取上清液,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。精密称取大黄素对照品适量,配制成质量浓度为0.084 mg/mL的大黄素对照品甲醇溶液,作为对照品溶液。

2.3.3 方法学考察

标准曲线绘制:精密吸取对照品溶液2、4、6、8、10 μL,依次进

分析检验、质量标准制订及复核验证等工作,(电子信箱)cpujf@yahoo.com.cn。

参考文献:

[1] Kaneoka T, Taguchi S, Shimizu H, et al. Prenatal diagnosis and treatment of intrauterine growth retardation[J]. Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi, 1986, 38(4): 561-569.  
[2] 俞辉,陈雪帆,董毅.反相高效液相色谱法测定烯丙醇片的含量[J].药物分析杂志,2003,23(4):293.

(收稿日期 2008-08-07)