

· 药品检验 ·

宫内节育器中剩余左炔诺孕酮的
高效液相色谱法测定

浙江医科大学药剂教研室(杭州310006) 林武

上海医科大学药剂教研室(上海200032) 金昭英

提要 本文报道了 HPLC 法测定释放左炔诺孕酮宫内节育器中的剩余药量。方法快速, 简便。本方法采用 YWG-C₁₈ 柱, 流动相为甲醇—水, 紫外检测波长 254 nm。样品中左炔诺孕酮用氯仿萃取, 以炔诺酮为内标, 药物与内标峰面积比与剩余药量成良好线性关系, 平均回收率为 $100.1 \pm 2.2\%$ 。本法适用于释放左炔诺孕酮宫内节育器体内释药规律的研究。

关键词 左炔诺孕酮 高效液相色谱 宫内节育器。

释放左炔诺孕酮宫内节育器(LNG-IUD)是一种新型的避孕器具, 它综合了惰性 IUD 和局部给予微剂量避孕药物的特点, 具较低的受孕率和副作用等优点^[1]。临床研究表明左炔诺孕酮释放速率的大小, 对避孕机制和效果有较大的影响, 过低的释药速度有增加宫外孕发生的可能^[2]; 而过高的释药速率则会引起药物对下丘脑—垂体—卵巢轴的作用, 抑制排卵^[3]。为了解 LNG-IUD 在子宫内的释药规律, 须对在子宫内安放一定时间后的 IUD 中的 LNG 剩余量进行测定。Nilsson 曾提出以二氯乙烷为溶媒提取硅橡胶为控释材料的 IUD 中 LNG, 用紫外分光光度法进行测定^[4]。此法易受杂质和辅料的干扰, 在应用上受到一定限制。为此建立了用氯仿提取, 反相 HPLC 测定 IUD 中剩余 LNG 的方法。

方法和结果

一、仪器和试剂

YSB-2 高效液相色谱仪及 DZ-1 254nm

紫外检测仪(中科院上海科仪厂), CDMC-1B 色谱数据处理机(上海计算机研究所), XWT-264 台式记录仪(上海大华仪表厂)

左炔诺孕酮(北京第三制药厂, 含量 > 99.9%)。

炔诺酮(内标物, 上海第十二制药厂, 含量 > 99.9%)

LNG-IUD(自制, 控释材料为改性乙烯醋酸乙烯共聚物)

甲醇、氯仿为 AR 级试剂

二、色谱条件

不锈钢色谱柱(150×5 mm i.d.), 固定相: YWG-C₁₈, 9~11 μm(天津化学试剂二厂, 中科院上海科仪厂装柱), 流动相: 甲醇—水(73:27), 流速: 1 ml/min, 检测波长: 254 nm, 灵敏度: 0.08 OD, 进样量: 10 μl。

三、测定方法

1. LNG 标准溶液及内标溶液配制

精密称取 LNG 适量, 用氯仿配制浓度约为 300 μg/ml, 精密称取内标物适量用

氯仿配制成浓度约为200 µg/ml。

2. 测定步骤

取待测 IUD 剪成 2~3 mm 小段, 置小三角瓶中, 用氯仿提取数次(5ml×4)。合并提取液加氯仿至 25 ml, 摇匀, 过滤, 取续滤液 5 ml, 加内标溶液 1 ml 并加氯仿稀释至 10 ml, 取 1 ml 于 40℃ 氮气下蒸干, 残渣溶于 1 ml 甲醇, 取 10 µl 作 HPLC 分析。同时以空白提取液加 LNG 标准溶液及内标溶

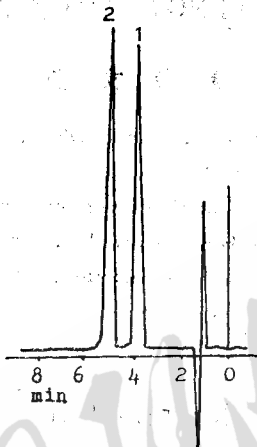


Fig.1 Chromatogram of sample and internal standard 1. IS 2. LNG

液各 1 ml 按上法处理后进样, 由色谱数据处理机求得响应因子并计算样品浓度。色谱图见图 1。

3. 方法线性

精密制备三组各种剂量的 LNG-IUD, 按上述方法处理后, 取 10 µl 进样。以 LNG 量为横座标, 药物与内标峰面积比为纵座标作图(图 2)。在剩余药量为 0.5~3 mg 范围内, 峰面积比与药物量成线性关系:

$$Y = -0.0118 + 0.9420X$$
$$r = 0.9988(n=17)$$

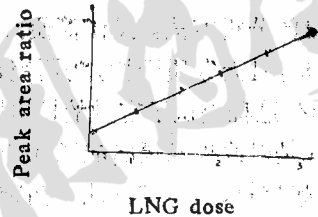


Fig.2 The relationship between LNG dose in IUD and peak area ratio

4. 回收率:

精密制备三批不同剂量的 LNG-IUD, 按上述 HPLC 方法进行测定, 计算回收率, 结果见表 1。

TABLE 1. Recoveries of LNG from IUD

group A			group B			group C		
real amount (mg)	calculated amount (mg)	recovery (%)	real amount (mg)	calculated amount (mg)	recovery (%)	real amount (mg)	calculated amount (mg)	recovery (%)
1.0158	1.0334	101.7	2.0254	2.0326	100.4	3.0558	3.1204	102.1
1.0155	1.0387	102.3	2.0313	2.0872	102.8	3.0196	2.9698	98.35
1.0223	0.9875	96.59	2.0075	1.9386	96.57	3.0155	3.0108	99.84
1.0019	1.0160	101.4	2.0127	2.0025	99.49	3.0567	3.1423	102.8
1.0118	0.9854	97.00	2.0034	1.9640	98.03	3.0155	2.9790	98.78
1.0037	0.9961	99.30	2.0254	2.0323	100.3	3.0191	3.1182	103.5

mean recovery, 100.1±2.2%

5. 样品测定

精密制备一定荷药量的 LNG-IUD 一批, 手术植入家兔子宫内进行释药试验。分别在放置 1~3 个月取出, 按上述 HPLC

方法测定 IUD 中剩余 LNG 含量, 由此算出每只 IUD 的累积释药量。累积释药量与体内释放时间呈线性关系(图 3), 表明该释药体系在家兔子宫内按零级速度释药, 其标

化释药速率为 $0.55 \mu\text{g}\cdot\text{mm}/\text{cm}^2/\text{d}$ 。

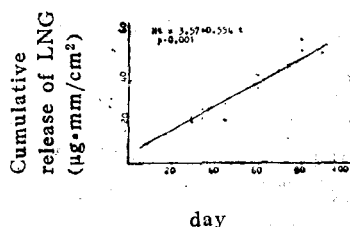


Fig.3 In vivo release profile of LNG from IUD

讨 论

应用反相 HPLC 测定 LNG-IUD 中 LNG 剩余量的分析方法, 操作简便, 回收率符合分析要求, 且无杂质干扰, 为研究 LNG-IUD 体内释药过程提供了有效的检测手段。

本 IUD 是以改性乙烯醋酸乙烯共聚物作为控释骨架材料, 二甲基硅油为药物载体。

用氯仿作为提取溶媒能使控释材料充分溶胀而不溶解, 故可有效地萃取 LNG。但氯仿能溶解二甲基硅油, 将氯仿提取液在氮气下蒸干后加入甲醇, 可使大分子的二甲基硅油不溶于甲醇而被分离除去, 以避免其对色谱柱的损害。我们曾用环己烷, 乙醇等作为萃取溶媒, 其效果均不及氯仿—甲醇二步处理理想。由于氯仿也能使硅橡胶充分溶胀, 故此方法同样适用于以硅橡胶为控释材料的 LNG-IUD 中 LNG 的萃取和测定。

参 考 文 献

- [1] El-mahgoub S: Am J Obstet Gynecol, 1975; 123:133
- [2] Iczfatusy E: Contraception, 1986; 33:7
- [3] Nilsson C G, et al: ibid, 1982; 25:273
- [4] Nilsson C G, et al: ibid, 1976; 13:503

Determination of Levonorgestrel Remained in Levonorgestrel Intrauterine Device By High Performance Liquid Chromatography

Lin Wu

(Department of Pharmaceutics, Zhejiang Medical University)

Jin Zhao-ying

(Department of Pharmaceutics, Shanghai Medical University)

A rapid and simple method for determining levonorgestrel (LNG) remained in levonorgestrel intrauterine device (LNG-IUD) by HPLC was reported. A YWG-C18 column, binary mobile phase ($\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$), and UV 254nm detector were used. LNG in the IUD was extracted with chloroform. Norethindrone was used as an internal standard. There was a good linear relationship between the ratio of the areas of LNG and internal standard and the amount of residual LNG. The mean recovery was $100.06 \pm 2.2\%$. This method is applicable in vivo release study of LNG-IUD.

Key words: Levonorgestrel HPLC intrauterine device.