

毛细管区带电泳法测定己烯雌酚片剂中己烯雌酚的含量

林培英, 武向锋, 刘荔荔, 邢旺兴(第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 用毛细管区带电泳法测定己烯雌酚的含量。方法: 采用 $40\text{cm} \times 50\mu\text{m}$ (i. d) 毛细管柱, 以肉桂酸为内标, $25\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂 ($\text{pH} = 9.18$) 为缓冲液, 电压 24kV , 虹吸进样, 时间 1s , 紫外检测波长 214nm 。结果: 在 4min 内可完成己烯雌酚与内标物的分离和测定, 最低检测限 $10.0\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 $105.7 \sim 528.5\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好 ($r = 0.9998$, $n = 5$); 回收率 $97.91\% \sim 101.58\%$, 日内 $RSD \leq 1.61\%$, 日间 $RSD \leq 3.76\%$ 。结论: 本方法简便、快速、准确, 适用于该制剂的质量控制。

关键词 己烯雌酚; 毛细管区带电泳; 肉桂酸

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2002)05-0289-02

Determination of diethylstilbestrol in diethylstilbestrol tablet by capillary zone electrophoresis

LIN Pie-ying, WU Xiang-feng, LIU Li-li, XING Wang-xing

(1. Pharmaceutical Analysis and Test Center, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To determine the contents of diethylstilbestrol by capillary zone electrophoresis (CZE). **METHODS:** Using cinnamon acid as the internal standard (IS), the electrophoretic separation was achieved with $25\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ borate ($\text{pH} = 9.18$) as the running buffer and a voltage of 24kV was applied to the $45\text{cm} \times 50\mu\text{m}$ (i. d) capillary. The analysis were introduced into capillary by siphon (1s) and determined with on-column monitoring at 214nm . **RESULTS:** The determination could be completed within 4min and the minimum concentration of detection was $10\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The analytical results of diethylstilbestrol samples demonstrated a good linear relationship within the $105.7 \sim 528.5\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The relative standard deviation (RSD) of intra-day was less than 1.61% and that of inter-day was less 3.76% . The present recoveries were between $97.91\% \sim 101.58\%$. **CONCLUSION:** This method is accurate, simple, sensitive and reliable, which can be applied to the determination of diethylstilbestrol content.

KEY WORDS capillary zone electrophoresis; diethylstilbestrol; cinnamon acid

己烯雌酚, 临床上主要用于闭经、绝经期综合症等, 大剂量可用于治疗前列腺癌, 属于雌激素类药, 其质量控制较严, 文献报道主要有紫外分光光度法、高效液相色谱法, 2000 版药典为 HPLC 法^[1~3]。本实验探讨并建立毛细管区带电泳法 (CZE) 分离分析己烯雌酚片剂中己烯雌酚的含量, 结果表明, CZE 法灵敏、准确、操作简便、快速且试剂消耗低、结果满意。

1 仪器与材料

美国 Waters Capillary Ion Analyzer, $50\mu\text{m} \times 45\text{cm}$ (i. d) 空心熔融石英毛细管柱, 紫外检测。己烯

雌酚化学对照品、肉桂酸化学对照品由中国药品生物制品检定所提供, 己烯雌酚片剂购自上海信谊制药厂, 硼砂、甲醇均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法和结果

2.1 电泳条件

分离电压 24kV ; 温度 25°C ; 虹吸进样, 高度 10cm 、时间 1s ; 紫外检测波长 214nm ; 分离用缓冲液为 $\text{pH} = 9.18$ 、 $25\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硼砂溶液, 试验了水杨酸、苯甲酸、肉桂酸等用作 CZE 法的内标, 发现以肉桂酸最佳, 因此, 实验以肉桂酸为内标。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取干燥己烯雌酚化学对照品 10.57mg 置 10ml 容量瓶中, 用适量甲醇溶解并稀释至刻度。精密称取干燥肉桂酸 10.50mg 置 10ml 容量瓶中, 用适量甲醇溶解并稀释至刻度, 即成浓度为 $1.05\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的肉桂酸内标液, 置冰箱备用。

2.3 供试品溶液的配制

取己烯雌酚片剂 20 片, 置研钵研碎, 准确称重, 用 40ml 甲醇超声 60min 并过滤, 同法 3 次, 合并滤液并烘干, 用少量甲醇溶解, 转移至 50ml 容量瓶, 定容, 得供试品溶液。

2.4 最低检测限的测定

配制一系列的对照品稀释液, 按 2.1 项下的测试条件、以信噪比 3:1 计, 测得己烯雌酚的最低检测限为 $10.0\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

2.5 标准曲线的建立

精取为 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0ml 的对照品液和各 1.0ml 的内标液, 配制浓度分别为 105.7, 211.4, 317.1, 422.8, $528.5\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 内标浓度均为 $105.0\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的系列溶液, 按 2.1 项下的测试条件测定, 以标准品与内标物的峰面积之比对浓度进行线性回归, 得回归方程 $Y = 0.4826x + 13.2421x$, $r = 0.9998$ 。

2.6 日间和日内精密度的考察

分别对浓度为 $105.7, 317.1, 528.5\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的

己烯雌酚液进行日间和日内精密度考察, 按 2.1 项下的测试条件测定并计算精密度, 结果见表 1。

表 1 己烯雌酚精密度考察结果 ($n = 5$)

浓度($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	RSD (%)	
	日内	日间
105.7	1.61	3.76
317.1	1.11	3.64
528.5	0.69	0.77

2.7 加样回收率实验

精密称取已知量的化学对照品加入己烯雌酚溶液中, 按 2.1 项下的测试条件进行测量并计算加样回收率, 结果见表 2。

表 2 己烯雌酚加样回收率测定结果 ($n = 3$)

加入量 ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	测量 ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
85.23	83.45	97.91		3.41
150.74	153.12	101.58	99.81	2.63
400.15	399.85	99.93		4.15

2.8 样品测定

按 2.1 项下的测试条件测定其含量, 结果见表 3, 色谱图见图 1。

表 3 样品液含量测定结果 ($n = 3$)

批号	占标示量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
20010524	99.31		5.12
20011021	99.88	99.25	3.87
20010617	98.58		4.22

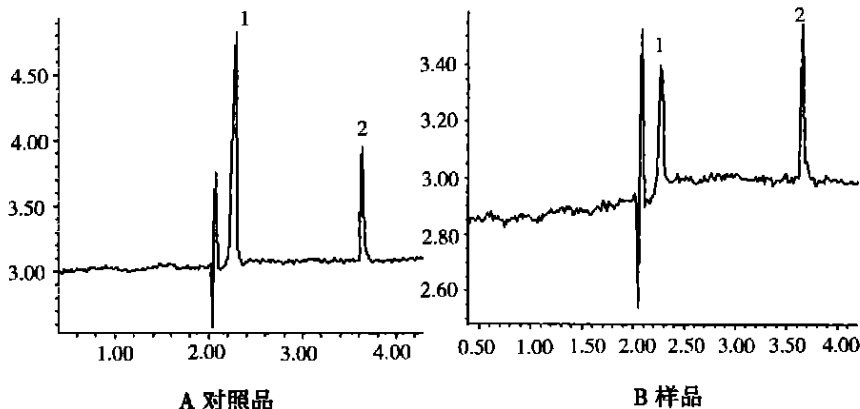


图 1 己烯雌酚的 CZE 色谱图

1- 己烯雌酚, 2- 内标

3 讨论

本文采用毛细管区带电泳法分析并测定了己烯雌酚片剂中己烯雌酚的含量, 己烯雌酚的迁移时间约为 2.86min, 测试样品只需 4min; 而现行药典收录的高效液相色谱法虽然准确, 但与本法相比较, 其所需的色谱柱价格昂贵, 需要配制大量的流动相, 且流动相中所含的甲醇有毒, 且对样品的处理繁琐, 分析时间相对较长, 而 CZE 法所用的石英毛细管价廉, 背景电解质为普通的硼砂盐,

几乎不消耗溶剂且无毒, 方法快速、高效、低耗、准确, 因此可用于己烯雌酚制剂中己烯雌酚的定量分析。

参考文献:

- [1] 陈雅, 张志义. 三次长法测定己烯雌酚乳剂含量[J]. 药品检测, 1999, 8(3): 22.
- [2] 匡佩琳, 李平, 罗晓红. HPLC 法测定己烯雌酚软膏含量[J]. 药物分析杂志, 200, 20(5): 351.
- [3] 中国药典 2000 年版. 二部[S]. 2000: 43.