

HPLC法分离测定左炔诺孕酮片中右旋体

尹博, 黄文莲, 汪洋, 刘诚

武汉九珑人福药业有限责任公司, 湖北 武汉

收稿日期: 2025年7月23日; 录用日期: 2025年9月16日; 发布日期: 2025年9月25日

摘要

目的: 建立高效液相色谱方法, 检测左炔诺孕酮及左炔诺孕酮片中右旋异构体杂质的含量。方法: 采用 CHIRAPAK IC (250 × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为异丙醇 - 正己烷(25:75), 流量为1.0 mL/min, 检测波长237 nm, 柱温30°C。结果: 所建立的检测方法能有效分离左炔诺孕酮与其右旋异构体, 达到基线分离, 并检测左炔诺孕酮中右旋体杂质的含量。结论: 该检测方法分离效果良好, 简便且重复性好, 可用于左炔诺孕酮原料和制剂的质量控制。

关键词

左炔诺孕酮, 右旋异构体, 高效液相色谱法, 杂质

The Isomers in Levonorgestrel Were Isolated and Determined by HPLC

Bo Yin, Wenlian Huang, Yang Wang, Cheng Liu

Wuhan Jiulong Renfu Pharmaceutical Co., Ltd., Wuhan Hubei

Received: Jul. 23rd, 2025; accepted: Sep. 16th, 2025; published: Sep. 25th, 2025

Abstract

Objective: To establish a high-performance liquid chromatography method to detect the content of levonorgestrel and levonorgestrel tablets with dextral isomer impurities. **Methods:** CHIRAPAK IC (250 × 4.6 mm, 5 μm) chromatographic column was used, the mobile phase was isopropanol-n-hexane (25:75), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 237 nm, and the column temperature was 30°C. **Results:** The established detection method could effectively separate levonorgestrel from its dextro isomer to achieve baseline separation, and detect the content of dextral impurities in levonorgestrel. **Conclusion:** This detection method has good separation effect, simplic-

ity and good reproducibility, and can be used for quality control of levonorgestrel raw materials and preparations.

Keywords

Levonorgestrel, Dextroisomer, HPLC, Impurity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

左炔诺孕酮，化学名为(-)-13-乙基-17-羟基-18, 19-双去甲基-17 α -孕甾-4-烯-20-炔-3-酮，化学结构式如图 1 所示。左炔诺孕酮作用于下丘脑和垂体，能降低月经中期卵泡刺激素和促黄体生成素水平，抑制排卵并阻止卵泡着床，临床主要用作紧急避孕药[1] [2]。左炔诺孕酮片为 2020 年版中国药典收载的口服避孕制剂。左炔诺孕酮具有手性中心，其对映体右旋体无活性，左炔诺孕酮右旋体结构式如图 2 所示。准确控制异构体杂质的含量是提高左炔诺孕酮用药安全性的重要手段，为此有必要对左炔诺孕酮异构体进行质量控制，探索一种简便有效可靠的检测方法。2020 年版中国药典采用三氯甲烷溶解左炔诺孕酮后，检测比旋度的方法来控制左炔诺孕酮异构体；施捷[3]采用 γ -环糊精为流动相添加剂，建立了左炔诺孕酮与其右旋体分离良好的色谱方法；尹燕杰[4]采用 CHIRAPAK IC (4.6 \times 250 mm, 5 μ m)手性色谱柱，以正己烷 - 无水乙醇为流动相，建立了可检测左炔诺孕酮中异构体含量的高效液相色谱法；牛犇等[5]采用 DAICEL IG (250 \times 4.6mm, 5 μ m)色谱柱，以正庚烷、乙醇、三氟乙酸为流动相，检测左炔诺孕酮右旋异构体含量的方法。

本文在 HPLC 方法基础上，调整流动相体系，以提高检测组分的分离度，消除空白辅料的干扰，最后将优化后的色谱条件进行方法学验证试验，从而建立了能够对左炔诺孕酮原料药和左炔诺孕酮片中左炔诺孕酮右旋体含量检测的方法，为左炔诺孕酮片的质量控制提供可靠的检测手段，确定用药安全有效。

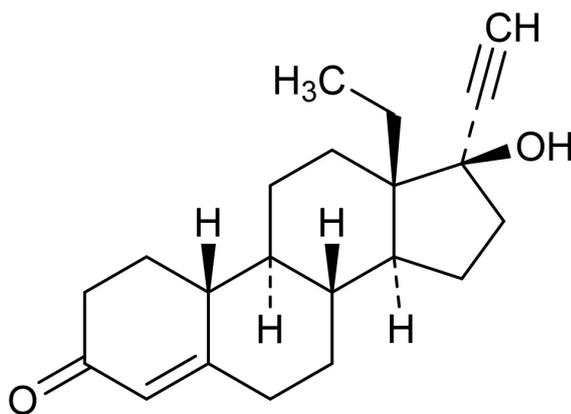


Figure 1. Levonorgestrel chemical formula

图 1. 左炔诺孕酮化学结构式

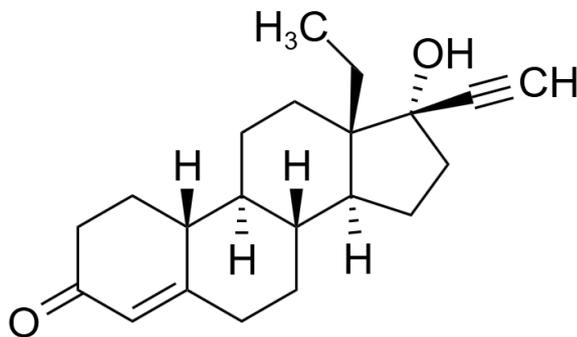


Figure 2. Chemical structure of levonorgestrel dextroisomer
图 2. 左炔诺孕酮右旋异构体化学结构式

2. 仪器与试药

SHIMADZU LC-20AT 高效液相色谱仪, SPD-20A 紫外检测器, Chromeleon 软件系统; XS205 梅特勒电子天平。

左炔诺孕酮对照品(含量 99.2%, 批号 100076-201205)由中国食品药品检定研究院提供; 左炔诺孕酮异构体对照品(含量 98.2%, 批号 4046-086A3), 由 TLC 公司提供; 左炔诺孕酮片空白辅料片、左炔诺孕酮片市场购买和生产企业提供; 正己烷、无水乙醇、异丙醇均为色谱级。

3. 方法

3.1. 溶液的制备

异构体对照品溶液: 取左炔诺孕酮异构体对照品约 5 mg, 精密称定, 置 50 ml 量瓶中, 加无水乙醇稀释, 超声溶解, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

异构体定位溶液: 精密量取左炔诺孕酮异构体对照品溶液 0.3 ml, 置 20 ml 量瓶中, 加无水乙醇稀释, 超声溶解, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

左炔诺孕酮对照品溶液: 精密量取左炔诺孕酮异构体对照品溶液 0.3 ml, 置 20 ml 量瓶中, 加无水乙醇稀释, 超声溶解, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

混合溶液: 精密量取左炔诺孕酮异构体对照品溶液 0.3 ml, 置 20 ml 量瓶中, 加无水乙醇稀释, 超声溶解, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

供试品溶液: 精密称取左炔诺孕酮片细粉约 1000 mg (约相当于左炔诺孕酮 7.5 mg), 置 10 ml 量瓶中, 加无水乙醇适量, 超声 5 分钟使左炔诺孕酮溶解, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜滤过, 即得。

空白辅料溶液: 精密称取左炔诺孕酮空白片细粉约 1000 mg, 置 10 ml 量瓶中, 加无水乙醇适量, 超声 5 分钟, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜滤过, 即得。

3.2. 色谱条件

色谱柱 CHIRAPAK IC (4.6 \times 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为异丙醇 - 正己烷(25:75), 流量为 1.0 mL/min, 检测波长 237 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μl 。左炔诺孕酮右旋异构体分离色谱图见图 3。

3.3. 专属性考察

取溶剂、空白辅料溶液、异构体定位溶液、混合溶液和供试品溶液按照上述色谱条件分别进样。结

果表明空白辅料对左炔诺孕酮和左炔诺孕酮异构体分析检测未见干扰, 左炔诺孕酮和左炔诺孕酮异构体分离良好, 空白溶剂以及供试品溶液其他杂质不干扰异构体的测定, 图谱见图 4。

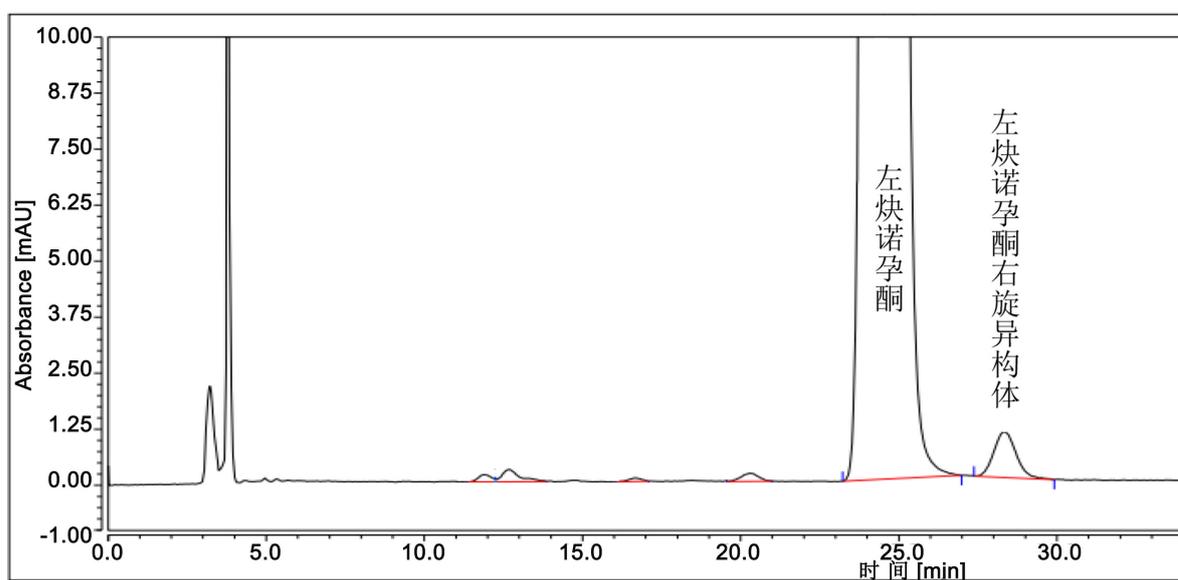


Figure 3. Chromatogram of levonorgestrel dextrorotation isomer

图 3. 左炔诺孕酮右旋异构体色谱图

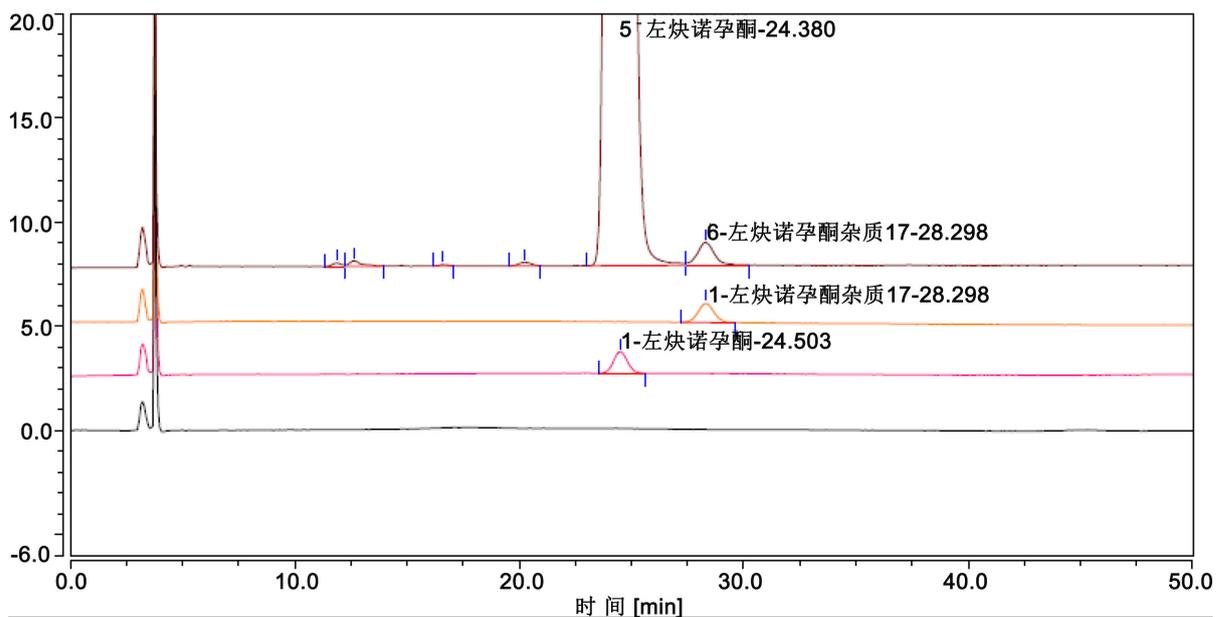


Figure 4. Specificity investigation map of levonorgestrel dextroprogener (from bottom to top, solvent, levonorgestrel localization solution, levonorgestrel isomer solution, and mixed solution map)

图 4. 左炔诺孕酮右旋异构体专属性考察图谱(从下至上分别是溶剂、左炔诺孕酮定位溶液、左炔诺孕酮异构体溶液、混合溶液图谱)

3.4. 线性关系考察

精密量取左炔诺孕酮对照品溶液 2 ml, 置 10 ml 量瓶中, 精密量取异构体对照品溶液 1.5 ml, 置同一

10 ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,作为储备溶液;精密量取储备溶液 0.1 ml、0.5 ml、1.0 ml、1.2 ml、1.5 ml 分别置 10 ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,制成系列浓度(定量限、50%、100%、120%、150%)的溶液,按照上述色谱条件依法测定,以浓度与其峰面积进行线性回归,结果左炔诺孕酮和左炔诺孕酮异构体回归方程分别为: $y=0.536x+0.0082$ 、 $y=0.5199x+0.0043$ 。相关系数分别为 1.0000 和 0.9989。线性范围分别为 0.15 $\mu\text{g/ml}$ ~2.22 $\mu\text{g/ml}$ 和 0.01 $\mu\text{g/ml}$ ~2.20 $\mu\text{g/ml}$ 。

3.5. 定量限与检测限

取异构体对照品溶液逐步稀释,分别以基线噪声的 10 倍 $S/N \approx 10$ 和基线噪声的 3 倍 $S/N \approx 3$ 作为定量限和检测限。在 2.2 色谱条件下,左炔诺孕酮异构体的定量限浓度为 0.15 $\mu\text{g/ml}$, S/N 为 12.8;左炔诺孕酮异构体的检测限浓度为 0.045 $\mu\text{g/ml}$, S/N 为 5.4,即含 3% 限度浓度的异构体能被检出。

3.6. 精密度

取混合溶液,按照上述色谱条件,连续进样 5 次,计算左炔诺孕酮和左炔诺孕酮异构体峰面积的 RSD 分别为 0.84% 和 2.11%,左炔诺孕酮和左炔诺孕酮异构体保留时间的 RSD 分别为 0.17% 和 0.26%。

3.7. 加样回收率试验

精密称取左炔诺孕酮片细粉约 2000 mg,共 9 份,分别置 20 ml 量瓶中,分别精密加入 0.15 ml、0.3 ml、0.45 ml 左炔诺孕酮异构体对照品溶液,配制为 50%、100%、150% 的加标溶液,平行配制三份。用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,用 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。按照上述色谱条件进样,依法测定。根据标准曲线计算回收率结果,9 份异构体回收率平均为 99.1%,RSD 为 3.20%。

3.8. 样品检测

按 2.1.4 项下制备供试品溶液,并按照 2.2 色谱条件下测定。来源于湖北省武汉九珑人福有限责任公司的加速 6 月和长期 16 月的左炔诺孕酮片(70230502 批、70231001 批、70231002 批、70231003 批),经测定均为检出左炔诺孕酮右旋异构体。

4. 讨论

左炔诺孕酮原料药及左炔诺孕酮片中异构体含量影响到用药的可靠性和安全性。2020 版中国药典采用比旋度测定左炔诺孕酮右旋异构体的含量,该方法灵敏度较低,不能完全满足检测需求,因此本文意在探求一种方便且灵敏度高的检测左炔诺孕酮右旋异构体的方法。

通过试验,确定色谱条件为:流动相为异丙醇:正己烷(25:75),流量为 1.0 mL/min,检测波长 237 nm,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μl 。为确保方法的可行性和有效性,对该方法进行了专属性和定量限与检测限的验证,验证结果表明该方法专属性良好,溶剂和空白辅料均不会对检测造成干扰;该方法灵敏性良好,其检测限为 0.045 $\mu\text{g/ml}$ 。该方法能够很好满足检测需求,对左炔诺孕酮及左炔诺孕酮片进行严格的质量控制。

参考文献

- [1] 高慧,吴航.基于 FDA 不良事件报告系统数据库的左炔诺孕酮上市后药物警戒研究[J].实用药物与临床,2025,28(3):174-177.
- [2] 凌怀娟,贾志祥,叶丹,等.高效液相色谱法测定左炔诺孕酮中间体乙基锂氨物中异构体含量[J].山东化工,2025,54(1):142-144.
- [3] 施捷,车宝泉,尹光.不同厂家左炔诺孕酮原料药及片剂中右旋体存在状况考察[J].中国药房,2015,26(4):538-540.

- [4] 尹燕杰, 李欣, 张昊天, 等. HPLC 法分离测定左炔诺孕酮中右旋异构体[J]. 中国药品标准, 2014, 15(2): 103-105.
- [5] 江苏联环药业股份有限公司. 一种测定左炔诺孕酮起始物料乙基羟化物异构体含量的方法[P]. 中国专利, 202411431837.1. 2025-01-24.