

· 工业药学 ·

米非司酮中杂质的HPLC分析

李明华 张 文 (浙江仙居制药厂, 仙居 317300)

米非司酮(RU486, mifepristone)为一甾体化合物,七十年代中期由法国 Roussel-Uclaf 公司首先合成,化学名为11 β -[4-(N,N-二甲氨基)]苯基-17 β -羟基-17 α -(1-丙炔基)-雌甾-4,9-二烯-3-酮。文献报道它具有抗孕激素和抗肾上腺皮质激素的作用,将作为避孕药物而广泛应用。

我们对近年来生产的米非司酮原料进行了质量考察,建立了较满意的高效液相色谱分析条件并用归一化法检查药品中其它甾体杂质含量,为进一步完善现行的质量标准和评估药物的毒副作用提供了有效的资料。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 990系列高效液相色谱仪,包括Waters公司多波长光电二极管阵列检测器,色谱数据处理机。

乙腈,甲醇均为色谱级试剂(上海脑研究所生产),其它试剂均为分析纯。

米非司酮原料10批(浙江仙居制药厂生产),N-去甲基化物对照品(仙居制药厂研究所精制)

1.2 供试溶液的制备

取供试品若干,精密称定。加少许乙腈溶解后,用流动相稀释样品溶液并定容,配制成每1ml含RU486 0.5 mg的供试溶液。

1.3 米非司酮中杂质的HPLC分析法

以Novapak C₁₈ (3.9 mm $\times$ 15 cm, 5 μ m)为色谱柱;乙腈—水(50:50 V/V)为流动相(经脱气后使用)流速1 ml/min;检测波长303 nm,灵敏度0.05 AUFS;进样体积5 μ l(约2.5 μ g),记录色谱图。为使各甾体杂质峰较好分离,须保证主杂质峰(杂质1)与RU486的分离度大于5.0,理论塔板数以RU486升大于5000。米非司酮原料可分离出2—4杂质峰,用面积归一化法定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离条件的确定

为使各甾体杂质得到有效分离,笔者考察了乙腈—水、甲醇—水体系以及有机添加剂三乙胺的色谱效应。实验证明,甲醇—水体系中甲醇体积为65—75%范围内杂质1峰与RU486能有效分离,但杂质2与杂质3在此体系中难有效分离,影响面积归一化法准确定量。乙腈—水体系中,随乙腈体积分数的减少,各甾体色谱峰的保留时间相应增加,当乙腈体积为50%时杂质1与RU486的分离度大于5.0,杂质2与杂质3分离度也大于1.5,杂质4峰处于杂质1与RU486之间,各甾体杂质峰均得有效分离,面积归一化法定量准确且重现性好,结果见图1, 2。鉴于RU486 11位上有一(N,N-二甲氨基)苯基团,在流动相中加入有机添加剂三乙胺等,以图改善峰形,实验证明乙腈—水体系的色谱峰形对称,有机添加剂效果并不明显。

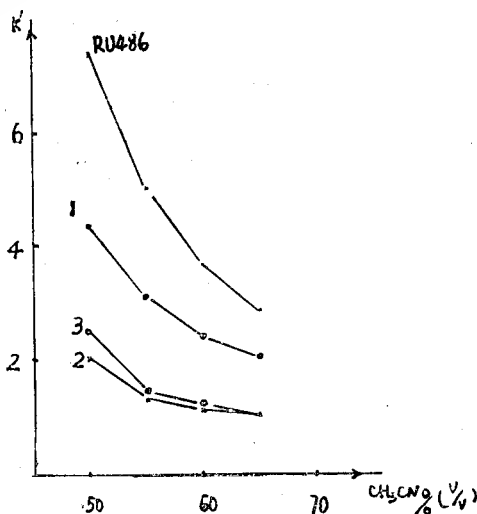


图1 乙腈体积百分数与各甾体K'的关系

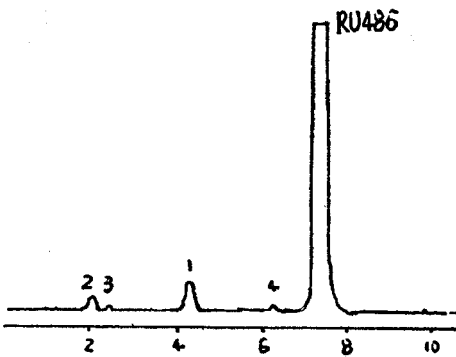


图2 RU486原料的色谱图1—4均为杂质峰

1. 杂质1; 2. 杂质2; 3. 杂质3

2.2 主杂质成分的确定

由图2可知杂质1峰为主杂质甾体成分, 笔者参考卫生部颁标准以N-去甲基化物为对照品, 对米非司酮中杂质进行TLC分析, 实验证明, 米非司酮中主杂质斑点与N-去甲基化物的R_f值相同, 见图3。采用本文的HPLC分析法, 实验结果为米非司酮的杂质1峰(主杂质)与N-去甲基化物色谱峰的保留时间一致; 经对流出峰紫外扫描, 杂质1峰的紫外最大吸收峰为305 nm、250 nm与N-去甲基化物对照品紫外吸收峰相一致, 为此笔者确认米非司酮中主杂质为N-去甲基化物, 结构式为:

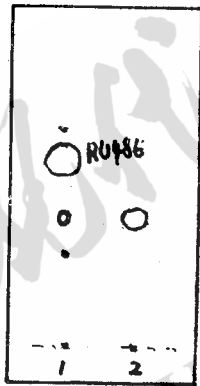
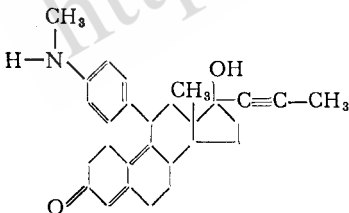


图3 米非司酮 TLC 图

1. 米非司酮原料
2. N-去甲基化物 Silica G 环烷-二氯甲烷-二氧六环(6:2:2)



对流出峰杂质2和杂质3紫外扫描, 结果见图4, 各甾体化合物的紫外吸收峰均有差异。

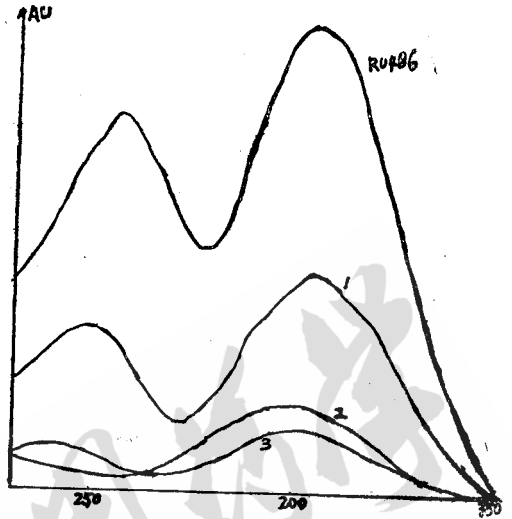


图4 各甾体杂质的紫外吸收谱

1—3为杂质峰

2.3 归一化测定结果

取供试品适量, 精密称定, 按上述分析方法进行HPLC分析。用归一化法测定十批米非司酮原料, 结果见表1。大多数原料的主杂质含量低于1%, 杂质总量低于2%。

表1 测定结果(n=2)

样 品	百 分 含 量 (%)					
	t _R	RU486 7.2'	杂质1 4.2'	杂质2 2.0'	杂质3 2.4'	杂质4 5.1'
910605		98.12	1.09	0.63		0.16
910422		99.22	0.63	0.06	0.09	
920621		98.66	0.84	0.059	0.21	0.23
920601		98.63	1.00	0.073	0.06	0.24
9307015		98.68	0.99	0.21	0.12	
9307017		98.70	0.92	0.08	0.06	0.24
9307014		98.70	0.86	0.24	0.20	
9401006		98.56	0.89	0.55		
9401007		98.74	1.11	0.15		
9401008		98.47	1.00	0.38	0.15	

收稿日期: 1994-08-02